



HAL
open science

Evaluación probabilística de riesgo por exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de tortillas en la ciudad de Veracruz

Hiram Alejandro Wall Martinez

► **To cite this version:**

Hiram Alejandro Wall Martinez. Evaluación probabilística de riesgo por exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de tortillas en la ciudad de Veracruz. Agricultural sciences. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2016. Español. NNT : 2016BRES0068 . tel-01818025v2

HAL Id: tel-01818025

<https://theses.hal.science/tel-01818025v2>

Submitted on 18 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UBO

université de bretagne
occidentale



UNIVERSITE
BRETAGNE
LOIRE

THÈSE / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Mention : Biologie, santé - Spécialité : Statistiques appliquées

École Doctorale SICMA (Santé, Information, Communication,
Mathématique, Matière)

présentée par

Hiram Alejandro Wall Martínez

Préparée au Laboratoire d'Evaluation du
Risque Chimique pour le Consommateur
UFR Sciences et Techniques, Brest, France
et Laboratoire de Génie de Procédés de
l'Instituto Tecnológico de Veracruz (au
Mexique).

Evaluation probabiliste du
risque lié à l'exposition à des
aflatoxines et des
fumonisines dû à la
consommation de tortillas de
maïs à la ville de Veracruz

Thèse soutenue le (20 /10 /2016)

devant le jury composé de :

Professeur Marco Antonio Salgado Cervantes

ITV / Examineur

Professeur Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes

ITV / Examineur

Professeur Magda Carvajal Moreno

UNAM / Rapporteur

Professeur Ángel Gil Izquierdo

CEBAS - CSIC / Rapporteur

Professeur Víctor José Robles Olvera

ITV/ Co-directeur de thèse

Professeur Alain-Claude Roudot

UBO / Directeur de thèse

Le jury sera ainsi composé :

Mme Carvajal Moreno Magda, Professeur
UNAM. Mexico, Mexique

M. Gil-Izquierdo Ángel, Directeur de recherche
C.S.I.C. Murcia, Espagne

M. Robles-Olvera Víctor José, Professeur
I.T.V. Veracruz, Mexique

M. Roudot Alain-Claude
U.B.O. Brest, France

Invite :

M. Salgado-Cervantes Marco Antonio
I.T.V. Veracruz, Mexique

INTRODUCTION

La contamination des céréales par les mycotoxines est un des risques chimiques que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a signalé le plus fréquemment. Les mycotoxines sont des métabolites secondaires fongiques toxiques pour l'homme et les animaux (FAO / OMS, 2006). Selon Miller (1995) il y a cinq groupes de mycotoxines importants pour la santé humaine: aflatoxines, ochratoxine A, fumonisines, trichothécènes (spécifiquement déoxynivalénol) et zéaralénone; parmi eux, les plus répandus dans le maïs sont les fumonisines et les aflatoxines.

Le centre international pour la recherche sur le cancer (CIRC) a classé les aflatoxines dans le Groupe 1A (cancérogène pour l'homme) et les fumonisines dans le groupe 2B (possible cancérogène pour l'homme). De nombreux pays ont fixé des limites réglementaires pour l'aflatoxine B₁ (AFB₁) et pour les aflatoxines totales (AFT) dans les aliments, avec le but d'éviter la consommation d'aliments contaminés par des aflatoxines. Ces limites ont été établies par de preuves scientifiques obtenues à partir des études d'évaluation de risques (IARC, 1993). Dans l'Union Européenne, les limites maximales de AFB₁ et AFT sont 2 et 4 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivement (Commission Regulation, 2006). La législation mexicaine a établi un niveau de tolérance maximale d'aflatoxines (AFT) de 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dans le maïs (NOM-188-SSA1-2002).

La tortilla de maïs est un composant de base de l'alimentation mexicaine. Pour faire des tortillas, le maïs doit être soumis à un procédé appelé nixtamalisation. Pendant la nixtamalisation, le maïs est cuit dans une solution alcaline à la température d'ébullition, ce procédé est utilisé pour la préparation de différents aliments dérivés du maïs ; il a été montré que la nixtamalisation peut réduire considérablement les aflatoxines (80 - 95 %) et les fumonisines (> 90 %) (Elias-Orozco *et al.* 2002; Palencia *et al.* 2003; Méndez-Albores *et al.* 2004; Anguiano-Ruvalcaba *et al.* 2005). Toutefois, les quantités résiduelles pourraient dépasser les limites fixées par les législations et aucune étude n'a été menée pour évaluer le risque que cela peut représenter. Même dans les pays d'Amérique Latine qui ont un taux de consommation de maïs aussi élevé que celui du Mexique, où on a rapporté une incidence élevée de mycotoxines dans le maïs, les études pour évaluer le risque lié à l'exposition à des mycotoxines dû à la consommation de maïs contaminé, ont été décrits comme non suffisantes (JECFA, 1999; JECFA, 2001).

Il est donc nécessaire de mener une étude sur le risque lié à l'exposition à ces mycotoxines à travers la consommation de tortillas de maïs. L'évaluation de l'exposition consiste à associer la consommation alimentaire, la concentration de la contamination et le poids corporel du consommateur, de sorte que la dose journalière estimée (EDI) puisse être calculée. La conclusion sur le risque d'exposition est calculée à partir de la comparaison de la dose journalière estimée avec la dose journalière admissible (ADI) (FAO/WHO, 2006).

ANTÉCÉDENTS

La présence d'aflatoxine dans de produits issus du maïs au Mexique a été rapportée à plusieurs reprises. Castillo-Urueta et al. (2011) ont rapporté des données brutes de teneur totale en aflatoxines dans les tortillas à Mexico. Les taux d'aflatoxines ont été obtenus à partir d'échantillons de 2 kg prises parmi 198 tortillerias (magasins de tortilla) situés dans différents quartiers de la ville de Mexico. Dans chaque quartier, trois supermarchés et trois magasins de tortilla ont été choisis. Un total de 396 échantillons de tortillas ont été prélevés au cours de deux années consécutives (2006 et 2007). Les résultats ont montré que 17 % des échantillons contenaient des aflatoxines à des taux de 3 - 385 $\mu\text{g kg}^{-1}$; dans ces échantillons, 13 % dépassaient la limite réglementaire mexicaine de 12 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (NOM-187-SSA1 / SCFI-2002).

Une évaluation de l'exposition aux fumonisines dû à la consommation de produits de maïs a été menée par Martins et al. (2012), qui ont recueilli 100 échantillons de produits de maïs pour calculer l'EDI à Parana, Brésil. Le pourcentage des aliments contaminés par des FB_1 était de 82 % tandis que pour FB_2 il était de 51 %, avec des concentrations allant jusqu'à 4348 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ($\text{FB}_1 + \text{FB}_2$). La consommation moyenne de maïs de la population de Paraná était de 14,5 g j^{-1} et le poids corporel a été établi à 60 kg. Ainsi, l'EDI a été calculé de façon déterministe à 120,58 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$ et le pire scénario, en utilisant le taux maximal de contaminant (90^{ème} percentile), à 256,07 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$, ce qui est inférieure à l'ADI (2000 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$) (JEFCA, 2001).

Une évaluation probabiliste de l'exposition aux aflatoxines a été menée par Zhao et al. (2013), qui ont estimé la dose journalière d' AFB_1 lié à la consommation d'épices chinoises. 11 % des échantillons ont été contaminés par l' AFB_1 à des concentrations allant jusqu'à 27.52 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Une distribution triangulaire a été ajustée aux données, en utilisant la valeur minimale soit égale à zéro soit égale à la limite de détection, le mode a été pris comme la valeur centrale de la distribution et la valeur maximale a été fixée à la concentration maximale observée. Ils ont utilisé les données de consommation (9,54 à 10,11 g j^{-1}) publiées par Pradeep et al. (1993). Selon le scénario, l'IDE était de 0,25 à 2 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$, donc on peut supposer que la consommation d'épices chinoises serait liée à des effets négatifs sur la santé, principalement liés à l'hépatite B.

Cependant, la fréquence élevée de contamination par des FBs et des AFT dans les aliments à base de maïs confirme la nécessité de faire des études sur ce sujet afin de minimiser le risque de développer le cancer dans la population ayant une forte consommation de produits de maïs comme celle du Mexique.

OBJECTIF

L'objectif de ce projet a été d'établir une méthodologie pour évaluer l'exposition probabiliste du risque du à la consommation de tortillas de maïs contaminées par des aflatoxines et des fumonisines dans la ville de Veracruz.

MÉTHODES

Les dimensions d'une carte de la ville de Veracruz ont été capturées dans le logiciel MATLAB pour générer des coordonnées géographiques aléatoires. Ces coordonnées ont servi pour prendre déterminer les lieux d'échantillonnage des tortillas et les lieux des enquêtes, afin d'obtenir des échantillons aléatoires et représentatifs autant des tortillas que des consommateurs. Les équations (1) et (2) ont été utilisées pour la génération des coordonnées géographiques aléatoires.

$$x = \text{aléatoire}(x_1, x_2) \dots \text{Équation (1)}$$

$$y = \text{aléatoire}(y_1, y_2) \dots \text{Équation (2)}$$

Échantillonnage des consommateurs : une fois que les coordonnées géographiques avaient été localisées *in situ*, l'intervieweur a choisi une maison et a invité la famille à participer à une enquête sur la consommation alimentaire de type «consommation quotidienne». La première partie comprenait des questions de classification concernant leur âge, le poids et le sexe. Dans la deuxième partie, chaque personne a enregistré le nombre de tortillas consommées après chaque repas (petit déjeuner, déjeuner et dîner) pendant 3 jours consécutifs. Après cette période, le questionnaire de consommation journalière a été recueilli.

Les données de consommation de tortillas de maïs ont été exprimées en termes de la teneur de maïs. Le poids de la tortilla peut varier de quelques grammes selon la tortillería où la tortilla a été faite. Pour en tenir compte, des tortillas provenant de 40 tortillerías différentes ont été pesées. De même, le contenu de maïs a été déterminée pour 40 tortillas. Le contenu de maïs dans les tortillas a été obtenu par élimination de l'eau. Un four à vide à 60 °C et à une pression de 100 mm Hg a été utilisé.

Échantillonnage des tortillas : une fois que les coordonnées géographiques ont été localisées *in situ*, on a cherché la tortillería la plus proche de la coordonnée. Les tortillerías ont été classées en fonction de la matière première utilisée (soit du maïs nixtamalisé *in situ*, soit de la farine de maïs nixtamalisé). Afin d'analyser l'effet des différentes conditions environnementales sur la contamination de la tortilla de maïs et en conséquence sur le risque alimentaire, on a prélevé des

échantillons de 40 tortilleras par saison : Octobre 2013, Octobre 2014 et Février 2015. La taille de chaque échantillon était de 2 kg.

Chaque échantillon de tortilla a été séché à 60 °C dans un déshydrateur à plateaux pendant 2,5 h (après cette durée le taux d'humidité est d'environ 6 %). Les tortillas déshydratées ont été broyées à une granulométrie inférieure à 0,5 mm et homogénéisées pendant 15 min à 30 tours par minute pour le récipient et 200 tours par minute pour la vitesse de rotation des aubes (REDCO, model OPTIMATE), les échantillons homogénéisés ont été emballés sous vide et stockés à -40 °C jusqu'à l'analyse. La quantification des mycotoxines a été effectuée par chromatographie liquide haute performance couplée à la détection par fluorescence, selon UNE 141123:2003 pour les aflatoxines et UNE 13585:2002 pour les fumonisines.

La fonction de densité de probabilité (PDF) et les statistiques descriptives (moyenne, médiane, écart-type et le 95^{ème} percentile) de la consommation, du poids corporel et du taux de contamination ont été construits avec le logiciel @Risk (Palisade), la dose journalière estimée (EDI) a été obtenue au moyen de l'équation (3) en utilisant la méthode de Monte Carlo avec 10.000 itérations, avec le logiciel décrit.

$$EDI = \frac{I_{PDF} C_{PDF}}{BW_{PDF}} \dots \text{Équation (3)}$$

$EDI =$	Intake Daily Exposure (ng mycotoxine kg ⁻¹ poids corporel j ⁻¹)
$I_{PDF} =$	PDF de la consommation de maïs contenu dans les tortillas (kg j ⁻¹)
$C_{PDF} =$	PDF de la teneur de mycotoxines dans les tortillas (ng kg ⁻¹)
$W =$	PDF de poids corporel (kg)

Le pourcentage de la population à risque a été calculé à partir de l'intégrale à droite de la dose journalière admissible (DJA) dans le PDF de la dose journalière estimée (IDE).

RÉSULTATS

Les paramètres de la moyenne de la PDF du poids corporel a été 74,15 kg pour les hommes (ce qui coïncide avec celui rapporté par CANAIVE, 2013) et 65,83 kg pour les femmes. La consommation moyenne de tortilla a été 118,43 g de maïs par personne par jour, 142,85 g j⁻¹ pour les hommes et 87,37 g j⁻¹ pour les femmes.

Plus de 90% des échantillons ont été contaminés par des aflatoxines à une concentration allant de 0,54 à 1,96 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Octobre 2013 a été la période qui a présenté des tortillas les plus contaminées par l'aflatoxine, atteignant 10,51 $\mu\text{g kg}^{-1}$ au 95^{ème} percentile. Les échantillons avec la contamination la plus importante provenaient de tortillerías qui font la nixtamalization *in situ*.

En ce qui concerne les fumonisines, elles ont été détectées dans plus de 90 % des échantillons à des teneurs allant de 64,21 à 136,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Octobre 2014 a été la période qui a présenté des tortillas avec des teneurs en fumonisines les plus importantes. Tous les échantillons, même au 95^{ème} percentile étaient inférieurs aux limites autorisées par la Communauté européenne.

La consommation journalière d'aflatoxines a été de 0,94 à 3,34 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$ et celle de fumonisines 112,15 à 236,18 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$. Il a été constaté que jusqu'à 60 % de la population pourrait consommer plus de la dose d'aflatoxine (1 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc j}^{-1}$) recommandé par le JECFA (2001). La consommation de fumonisines était < 5 % en raison de la faible contamination par ces mycotoxines.

CONCLUSIONS

La fonction de densité de probabilité (PDF) des teneurs de mycotoxines dans des tortillas de maïs dans la ville de Veracruz a été évaluée. L'incidence d'aflatoxines et des fumonisines ne change pas en fonction de la saison cependant, il y a un effet sur la concentration de celles-ci, par exemple, la concentration plus élevée d'aflatoxine a été observée en Octobre 2013.

La consommation de tortillas et le poids corporel des consommateurs de tortillas dans la ville de Veracruz a été décrit par PDF et l'analyse de covariance, ce qui démontre une consommation plus élevée chez les hommes et les personnes ayant plus de poids.

La santé des citoyens de Veracruz est «à risque» à cause de l'exposition à des aflatoxines via la consommation de tortillas de maïs. Entre 30 % et 60 % (selon la saison de l'année) de la population dépasse la dose admissible (ADI).

En raison de la quantité d'aflatoxines trouvées dans les tortillas de maïs, il est conseillé de surveiller la matière première utilisée pour la fabrication des tortillas ainsi que le processus de nixtamalization dans les tortillerías de la ville de Veracruz. Cette étude devrait être étendue à des villes différentes, en particulier dans les communautés rurales, où la consommation de tortillas est plus importante.

REFERENCES

- Anguiano-Rubalcaba, G.L., Verver, Y., Vargas, A. y Guzmán De Peña D. 2005. Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Publica de México*. 47:369–375.
- Commission Regulation. 2006. (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union.
- Elias-Orozco, R., Castellanos-Nava, A., Gaytán-Martínez, M., Figueroa-Cárdenas, J.D. y Loarca-Piña, G. 2002. Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Additives Contam* 19:878–885.
- FAOSTAT. 2016, FAO database. Septiembre 2016.
- IARC.1993. International Agency for Research on Cancer. 1993. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic amines and mycotoxins. IARC monographs on evaluation of carcinogenic risk to humans (Vol. 56). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- JECFA. 1999. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Forty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No 884. WHO, Geneva, Switzerland. <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_884.pdf> (accessed June, 2013).
- JECFA. 2001. Joint Expert Committee of Food Additives, in “Safety evaluations of specific mycotoxins”. Prepared by the fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 6e15 February, Geneva.
- Méndez-Albores, A., De Jesús-Flores, F., Castañeda-Roldan, E., Arámbula-Villa, G., Moreno-Martínez, E. 2004. The effect of toasting and boiling on the fate of B-aflatoxins during pinole preparation. *Journal of Food Engineering*. 65:585–589.
- Miller, J. D. (1995). Fungi and mycotoxins in grains, implications for stored products research. *Journal of Stored Products Research*, 31, 1e16.
- NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.
- NOM-188-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana. Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.
- Palencia, E., Torres, O., Hagler, W., Meredith, F.I., Williams, L.D. y Riley, R.T. 2003. Total fumonisins are reduced in tortillas using the traditional nixtamalization method of mayan communities. *Journal of Nutrition*. 133:3200–3203.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores: Dr. *Víctor J. Robles Olvera*, Dra. *Guadalupe del Carmen Rodríguez J.*, *Marco Antonio Salgado C.* y *Alain-Claude Roudot* por su confianza, apoyo, motivación, y su valiosa atención en la dirección de este trabajo.

A los miembros de mi comité revisor: Dra. Rosa María Oliart Ros, Dr. Miguel Ángel García Alvarado, Dra. Patricia Guillermina Mendoza, Dra. Magda Carvajal Moreno por las sugerencias y el tiempo dedicado a la revisión y enriquecimiento de este trabajo.

Al Dr. Agustín Ariño y a la Universidad de Zaragoza, por el trato recibido y todo el conocimiento compartido durante mi estancia en la facultad de veterinaria.

Al personal del CIRAD, en especial a la Dra Catherine Brabet, el Dr. Noël Durand y a Pascaline Alter. Sus instalaciones y sus asesorías fueron determinantes para el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio de Ingeniería en Alimentos: M.C. Lucio Vazquez, M.C. *Arturo J. Olgún*, Dr. Rubén Aguirre, Dra. Martha Morales, Ing. Fernando Illana y Ing Karina Arguelles, por la buena disposición y todo el apoyo recibido siempre que hizo falta.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico recibido durante mis estudios de Doctorado que hizo posible la realización de este proyecto.

DEDICATORIAS

A mi mamá y mis Abuelos

A mis Hermanos y Primas

A mi familia

Silvia, Javi, Fabi, Moni, Pepe, Geño⁽⁺⁾, gracias por su cariño y apoyo incondicional.

A mis Amigos

Alejandra, Dirce, Libia, Lupita, Marisol, Paloma, Rafa, Sareli y Tere.

Mi vida es mejor porque ustedes son partes de ella.

RESUMEN

Wall Martínez, Hiram Alejandro M.C. Instituto tecnológico de Veracruz, 20 de octubre de 2016. Evaluación probabilística del riesgo por exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de maíz en la ciudad de Veracruz. Robles Olvera, Víctor José Dr., Rodríguez Jimenes, Guadalupe del Carmen Dra., Salgado Cervantes, Marco Antonio Dr., Roudot, Alain Claude Dr.

Uno de los peligros químicos que la OMS ha reportado con mayor frecuencia es la contaminación de los cereales por micotoxinas, principalmente por aflatoxinas y fumonisinas. La NOM-188-SSA1-2002 establece que la concentración de aflatoxinas en cereales no deben exceder de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$; sin embargo, se han reportado concentraciones $>200 \mu\text{g kg}^{-1}$ en maíz. Aunque se ha documentado que la nixtamalización elimina más del 90% de fumonisinas y entre el 80 y 95% de aflatoxinas, la cantidad residual puede ser importante, encontrando reportes de concentraciones superiores a $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ de aflatoxinas en tortilla, lo que representaría un riesgo debido al alto consumo de tortilla en México (325 g d^{-1}). La JECFA (2001) recomienda un consumo máximo de $2 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$ para fumonisinas, y recomienda reducir las aflatoxinas a niveles “tan bajos como sea razonablemente posible”. El objetivo de este proyecto fue establecer una metodología para evaluar probabilísticamente el riesgo a la exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz. Se realizaron 3 muestreos aleatorios y representativos de la ciudad de Veracruz, cada uno en 40 tortillerías. La ingesta de maíz y el peso de la población se estimaron mediante un cuestionario de consumo de tortillas. La cuantificación de micotoxinas se realizó por HPLC-FD empleando columnas de inmunoafinidad de acuerdo a la norma europea UNE-EN ISO 14123:2008 para aflatoxinas y UNE-EN 13585:2002 para fumonisinas en el CIRAD (Montpellier, Francia). El análisis estadístico se realizó bajo un enfoque probabilístico en colaboración con la Universidad de Bretaña Occidental (Brest, Francia), construyendo funciones de densidad de probabilidad (PDF) y utilizando el método Monte Carlo. El parámetro μ de las PDF's del peso de la población fue de 74.15 kg para hombres (el cual coincide con lo reportado por CANAIVE) y de 65.83 kg para mujeres; el de la contaminación en tortilla por aflatoxinas fue de $0.54 - 1.96 \mu\text{g kg}^{-1}$ y por fumonisinas de $65.46 - 136.00 \mu\text{g kg}^{-1}$; el del consumo de tortillas fue de 148.3 g de maíz por persona por día; el de la ingesta diaria de aflatoxinas fue de $0.94 - 3.14 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$ y el de fumonisinas de $146.24 - 314.99 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$. Las muestras con mayor contaminación por aflatoxinas provenían de tortillerías que nixtamalizan *in situ*. Al evaluar la exposición se encontró que hasta un 61.5 % de la población podría estar consumiendo una dosis mayor que la recomendada por el JECFA (2001) para aflatoxina ($1 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$). La exposición a la ingesta de fumonisinas fue $< 5 \%$ debido a la baja contaminación por estas micotoxinas. Los resultados sugieren que la población de la ciudad de Veracruz podría estar en riesgo alimentario por el consumo de tortillas de maíz contaminado con AFT. Es recomendable extender este estudio en comunidades rurales, donde los factores de riesgo podrían incrementarse.

ABSTRACT

Wall Martínez, Hiram Alejandro M.C. Instituto tecnológico de Veracruz, 20-October de 2016. Evaluación probabilística del riesgo por exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de maíz en la ciudad de Veracruz. Robles Olvera, Víctor José Dr., Rodríguez Jimenes, Guadalupe del Carmen Dra., Salgado Cervantes, Marco Antonio Dr., Roudot, Alain Claude Dr.

One of the chemical hazards that WHO has reported more frequently is cereals contamination with mycotoxins, mainly aflatoxins and fumonisins. NOM-188-SSA1-2002 establishes that aflatoxin concentration in grain should not exceed 20 mg kg^{-1} ; however, there are reported concentrations $> 200 \text{ mg kg}^{-1}$ in maize. Although it has been documented that nixtamalización removes more than 90% of fumonisins and between 80 and 95% of aflatoxins, the residual amount could be important, finding reports concentrations higher than 100 mg kg^{-1} of aflatoxin in tortilla, representing a risk due to the high consumption of tortillas in Mexico (325 g d^{-1}). The JECFA (2001) establishes a maximum intake of $2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$ for fumonisin and aflatoxin recommends reducing "as low as reasonably achievable" levels. 3 random and representative sampling in Veracruz city, each in 40 tortillerías, were made. Corn intake and weight of the population were estimated using a consumption questionnaire. mycotoxins analysis were performed by HPLC-FD using immunoaffinity columns according to European standard UNE-EN ISO 14123: 2008 for aflatoxins and UNE-EN 13585: 2002 for fumonisin in the CIRAD (Montpellier, France). Statistical analysis were performed under a probabilistic approach in collaboration with the University of Bretagne Occidentale (Brest, France), building probability density function (PDF) and using the Monte Carlo method. PDF parameters of the weight of the population was 74.15 kg for men (which coincides with reported by CANAIVE) and 65.83 kg for women; the pollution aflatoxin tortilla was $0.54 - 1.96 \text{ mg kg}^{-1}$ and fumonisin from $65.46 - 136.00 \text{ mg kg}^{-1}$; the tortilla consumption was 148.3 g of corn per person per day; the daily intake of aflatoxins was $0.94 - 3.14 \text{ ng kg}^{-1} \text{ bw d}^{-1}$ and fumonisin of $146.24 - 314.99 \text{ ng kg}^{-1} \text{ bw d}^{-1}$. Samples with higher aflatoxin contamination came from tortillerías that make the nixtamalization in situ. In assessing exposure it was found that up to 60% of the population could be consuming more than the recommended by JECFA (2001) for Aflatoxin dose ($1 \text{ ng kg}^{-1} \text{ bw d}^{-1}$). Exposure to fumonisins intake was $< 5\%$ due to low contamination by these mycotoxins. The results suggest that the population of the city of Veracruz could be in food risk by eating contaminated corn tortillas AFT. It is advisable to extend this study in rural communities, where risk factors could increase.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	4
2.1	Evaluación de riesgo	4
2.1.1	Evaluación probabilística de riesgo	8
2.1.2	Método Monte Carlo	11
2.1.3	Función de Densidad de Probabilidad	12
2.2	Importancia del maíz en México y a nivel mundial	13
2.3	Factores que afectan la calidad del maíz	15
2.4	Hongos filamentosos toxigénicos presentes en el maíz	15
2.4.1	El género <i>Aspergillus</i>	17
2.4.1.1	Toxicidad de las toxinas del género <i>Aspergillus</i>	17
2.4.1.2	Legislación para las toxinas del género <i>Aspergillus</i>	19
2.4.2	El género <i>Fusarium</i>	20
2.4.2.1	Toxicidad de las toxinas del género <i>Fusarium</i>	20
2.4.2.2	Legislación para las toxinas del género <i>Fusarium</i>	22
2.5	Localización del hongo en el grano de maíz	22
2.6	Presencia de micotoxinas en maíz	23
2.6.1	Aflatoxinas	24
2.6.2	Fumonisinias	24
2.7	La tortilla en México	25
2.8	Tecnología de la nixtamalización	26
2.9	Efecto de la nixtamalización sobre el contenido de Micotoxinas	28
2.10	Micotoxinas en tortillas de maíz	29
2.11	Antecedentes de análisis de riesgo por el consumo de micotoxinas en productos de maíz	31
2.12	Síntesis de antecedentes	32
3	OBJETIVO	34
3.1	Objetivo general	34
3.2	Objetivos específicos	34
4	MATERIALES Y MÉTODOS	35
4.1	Evaluación de riesgo	35
4.1.1	Materia prima	35
4.1.2	Aleatoriedad del muestreo	35
4.1.3	Localización de las tortillerías	35
4.1.4	Encuestas de consumo alimentario	36
4.1.4.1	Diario de consumo de tortillas	36
4.1.4.2	Frecuencia de consumo de productos derivados de maíz	37
4.1.5	Acondicionamiento de la tortilla de maíz	37
4.1.6	Determinación de micotoxinas por cromatografía líquida de alta presión	37
4.1.6.1	Metodología para el análisis de aflatoxinas por HPLC	38
4.1.6.2	Metodología para el análisis de fumonisinias por HPLC	40
4.1.7	Análisis estadístico de datos	42
4.1.7.1	Generación de las funciones de densidad de probabilidad	42
4.1.7.1.1	Generación de la PDF de contaminación por micotoxinas	42
4.1.7.1.2	Generación de la PDF del peso de la población	43
4.1.7.1.3	Generación de la PDF de Ingesta diaria estimada (EDI) de micotoxinas por consumo de tortilla de maíz	43
4.1.8	Análisis comparativo entre funciones de densidad de probabilidad	45
4.1.9	Cálculo de exposición del riesgo por consumo de micotoxinas en tortilla de maíz	46
4.2	Efecto de la nixtamalización sobre la degradación de aflatoxinas y fumonisinias en maíz	47

4.2.1	Materia prima.....	47
4.2.2	Pretratamiento de la muestra	47
4.2.3	Condiciones de nixtamalización	47
4.2.4	Cuantificación de micotoxinas	49
4.2.4.1	Cuantificación de micotoxinas por método de inmunoensayo de flujo lateral.....	49
4.2.4.1.1	Cuantificación de aflatoxinas	49
4.2.4.1.2	Cuantificación de fumonisinas	50
4.2.5	Cuantificación de micotoxinas por HPLC	50
4.2.5.1	Cuantificación de aflatoxinas	50
4.2.5.2	Cuantificación de fumonisinas	50
4.2.5.3	Cuantificación de micotoxinas por enzimunoanálisis de adsorción	51
4.2.5.3.1	Cuantificación de aflatoxinas por kits de ELISA	51
4.2.5.3.2	Cuantificación de fumonisinas por kits ELISA	52
4.2.6	Método Estadístico	53
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
5.1	Resultados de evaluación de riesgo	54
5.1.1	Encuesta de consumo de alimentos derivados de maíz	54
5.1.2	Diario de consumo de tortilla de maíz	59
5.1.2.1	Caracterización de la tortilla de maíz	60
5.1.2.2	Consumo de tortilla de maíz	62
5.1.2.3	Caracterización de los productos derivados de maíz	65
5.1.3	PDF del peso de los habitantes de la ciudad de Veracruz.....	73
5.1.4	Resultados de la contaminación por micotoxinas en tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz	75
5.1.4.1	Contenido de aflatoxinas en tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz.....	75
5.1.4.2	Contenido de fumonisinas en tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz.....	84
5.1.5	PDF de la contaminación de micotoxinas en tortillas de maíz	90
5.1.5.1	PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortillas de maíz.....	90
5.1.5.2	PDF de la contaminación de fumonisinas en tortillas de maíz.....	91
5.1.6	Ingesta diaria estimada (EDI) de micotoxinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz.....	92
5.1.6.1	EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz	92
5.1.6.2	Ingesta diaria estimada fumonisinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz	94
5.1.7	Estimación de la Ingesta Diaria Aceptada.....	95
5.2	Resultados del efecto de la nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas y fumonisinas	96
5.2.1	Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas en el grano de maíz.....	96
5.2.2	Evaluación del efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas en el grano de maíz	102
6	CONCLUSIONES	105
7	BIBLIOGRAFÍA	106
	ANEXO A	114
	ANEXO B	120

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2. 1	Principales hongos productores de micotoxinas y alimentos en los que pueden desarrollarse (Pitt y Hocking, 1996).....	16
Tabla 2. 2	Contenido de fumonisinas en productos de maíz comprados en diferentes regiones de México y de Estados Unidos	30
Tabla 4. 1	Condiciones de HPLC para la determinación de aflatoxinas	39
Tabla 4. 2	Concentración de los estándares de aflatoxinas utilizados para la preparación de la curva de calibración	40
Tabla 4. 3	Condiciones de HPLC para la cuantificación de fumonisinas	41
Tabla 4. 4	Concentración de los estándares de aflatoxinas utilizados para la preparación de la curva de calibración	42
Tabla 4. 5	Límites de contaminación superior e inferior utilizados para el cálculo de aflatoxinas totales	43
Tabla 4. 6	Tratamientos utilizados para el experimento 1 de la la nixtamalización de los granos de maíz	48
Tabla 4. 7	Tratamientos empleados para el experimento 2 de la nixtamalización de los granos de maíz	49
Tabla 5. 1	Clasificación por edades y género en la población y muestra seleccionada de la ciudad de Veracruz.....	56
Tabla 5. 2	Ocupación del jefe de familia en los hogares de la ciudad de Veracruz.....	56
Tabla 5. 3	Status Socioeconómico de los habitantes de la ciudad de Veracruz.....	58
Tabla 5. 4	Hábitos de compra y almacenamiento de tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz	59
Tabla 5. 5	Comparación del peso de las tortillas en la ciudad de Veracruz y de su contenido de maíz con los obtenidos por ajuste de la distribución normal	61
Tabla 5. 6	Porcentaje de consumidores de tortilla en cada tiempo de comida	62
Tabla 5. 7	Función de densidad de Probabilidad del consumo diario de tortillas en la ciudad de Veracruz	63
Tabla 5. 8	Parámetros estadísticos de la PDF de la ingesta diaria de maíz proveniente de tortilla de maíz para la población de la ciudad de Veracruz.....	64
Tabla 5. 9	Contenido de maíz en productos derivados de maíz en las porciones presentadas en el cuestionario de frecuencia de consumo	65
Tabla 5. 10	Consumidores de productos derivados de maíz de la ciudad de Veracruz	66
Tabla 5. 11	PDF de la ingesta diaria de maíz para consumidores de alimentos derivados de maíz en la ciudad de Veracruz	66
Tabla 5. 12	PDF de la ingesta diaria de maíz para consumidores de alimentos derivados maíz en la ciudad de Veracruz en hombres.	67
Tabla 5. 13	PDF de la ingesta de maíz diaria para consumidores de alimentos derivados del maíz de la ciudad de Veracruz en mujeres	67
Tabla 5. 14	Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población total de la ciudad de Veracruz	69
Tabla 5. 15	Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población masculina de la ciudad de Veracruz.....	69
Tabla 5. 16	Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población femenina de la ciudad de Veracruz	70
Tabla 5. 17	Análisis de Covarianza del consumo de productos derivados del maíz.....	71
Tabla 5. 18	PDF del peso de la población de la ciudad de Veracruz.....	73
Tabla 5. 19	Contenido de aflatoxinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Octubre de 2013	75
Tabla 5. 20	Contenido de aflatoxinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Octubre de 2014	77
Tabla 5. 21	Contenido de aflatoxinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Febrero de 2015	79

Tabla 5. 22	Límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de aflatoxinas analizadas por HPLC-FD	83
Tabla 5. 23	Contenido de fumonisinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Octubre 2013	84
Tabla 5. 24	Contenido de fumonisinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Octubre 2014	86
Tabla 5. 25	Contenido de fumonisinas (ng g^{-1}) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Febrero 2015	87
Tabla 5. 26	Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para fumonisinas analizadas por HPLC-FD	89
Tabla 5. 27	PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortilla de maíz en la ciudad de Veracruz	90
Tabla 5. 28	PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortilla de maíz en la ciudad de Veracruz sin los valores de mayor contaminación	91
Tabla 5. 29	Parámetros de la PDF de la contaminación de fumonisinas en tortilla de maíz para las temporadas analizadas	91
Tabla 5. 30	EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla en la ciudad de Veracruz	92
Tabla 5. 31	EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz sin los datos de mayor contaminación	92
Tabla 5. 32	EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla en la ciudad de Veracruz. Comparación entre hombres y mujeres	94
Tabla 5. 33	EDI de fumonisinas en tortilla de maíz para los consumidores de la ciudad de Veracruz	94
Tabla 5. 34	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas totales (B_1, B_2, G_1, G_2) en maíz	96
Tabla 5. 35	Análisis de varianza del logaritmo natural de la concentración de aflatoxinas en el grano de maíz	97
Tabla 5. 36	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas totales (B_1, B_2, G_1, G_2) en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de AFt es de $80.5 \mu\text{g kg}^{-1}$	99
Tabla 5. 37	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina B_1 en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de AFB_1 es de $64.42 \mu\text{g kg}^{-1}$	99
Tabla 5. 38	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina B_2 en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFB_2 es de $2.67 \mu\text{g kg}^{-1}$	100
Tabla 5. 39	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina G_1 en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFG_1 es de $0.787 \mu\text{g kg}^{-1}$	100
Tabla 5. 40	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina G_2 en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFG_2 es de $12.61 \mu\text{g/kg}$	101
Tabla 5. 41	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas Totales (FB_1, FB_2) en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum t es de $213.73 \mu\text{g/kg}$	103
Tabla 5. 42	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisina B_1 en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum B_1 es de $197.4 \mu\text{g/kg}$	103
Tabla 5. 43	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisina B_2 en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum B_2 es de $16.3 \mu\text{g/kg}$	104

INDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1	Evaluación de riesgos de acuerdo a su complejidad y los recursos disponibles (FAO/OMS, 2006).....	9
Figura 2. 2	Tasa de consumo <i>per capita</i> de maíz a nivel mundial (CIMMYT, 2010).....	13
Figura 2. 3	Estructura química de aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂	19
Figura 2. 4	Estructura química de fumonisinas B ₁ , B ₂ , B ₃ y B ₄	21
Figura 2. 5	Estructura de un grano de maíz.....	23
Figura 2. 6	Transformación en el maíz inducida por el proceso de nixtamalización.....	27
Figura 4. 1	Pre tratamiento de la muestra para determinar el contenido de micotoxinas durante la nixtamalización.....	48
Figura 5. 1	Área delimitada de la ciudad de Veracruz utilizada para realizar el muestro y las encuestas de consumo alimentario.....	54
Figura 5. 2	Sitios de muestreo de tortilla de maíz en octubre 2013.....	55
Figura 5. 3	Sitios de aplicación de encuesta “Diarios de consumo de tortillas”.....	55
Figura 5. 4	Regiones socioeconómicas de México, sección ciudad de Veracruz (INEGI,2000) ...	58
Figura 5. 5	PDF del peso de tortillas en la ciudad de Veracruz.....	60
Figura 5. 6	PDF del contenido de maíz en tortilla de la ciudad de Veracruz.....	61
Figura 5. 7	Función de densidad del consumo de tortilla en la ciudad de Veracruz, ajustada a una distribución gamma.....	63
Figura 5. 8	PDF de la ingesta de tortilla para los consumidores de la ciudad de Veracruz (g maíz d ⁻¹).	65
Figura 5. 9	PDF de la ingesta de antojitos para los consumidores de la ciudad de Veracruz, ajustado a una función Gamma,.....	68
Figura 5. 10	Ingesta diaria estimada (EDI) del consumo de Tamales en la ciudad de Veracruz....	71
Figura 5. 11	PDF del peso de la población masculina en la ciudad de Veracruz, ajustada a una función Gamma.....	74
Figura 5. 12	PDF del peso de la población femenina en la ciudad de Veracruz, ajustada a una función Gamma.....	74
Figura 5. 13	Tortillerías con mayor contaminación de aflatoxinas, situadas en un mapa de la ciudad de Veracruz.....	83
Figura 5. 14	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas (µg kg ⁻¹) en el grano de maíz con varianza estandarizada.....	97
Figura 5. 15	Efecto de la concentración de hidróxido de calcio sobre el aspecto de los granos de maíz nixtamalizados a temperatura de ebullición a) 0.5 % Ca(OH) ₂ b) 1.0 % c) 3 %.....	98
Figura 5. 16	Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas µg kg ⁻¹ en el grano de maíz.....	102
Figura B.1	Curva de calibración para las fumonisinas B ₁	120
Figura B.1	Curva de calibración para las fumonisinas B ₂	120
Figura B.1	Curva de calibración para las aflatoxinas B ₁	121
Figura B.1	Curva de calibración para las aflatoxinas B ₂	121
Figura B.1	Curva de calibración para las fumonisinas G ₁	122
Figura B.1	Curva de calibración para las fumonisinas G ₂	122

1 INTRODUCCIÓN

La inocuidad alimentaria como vía para proteger la salud pública y promover el desarrollo económico mediante la exportación de productos alimenticios es un importante desafío tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Muchos países han progresado en el fortalecimiento de los sistemas de inocuidad, lo que manifiesta la oportunidad de reducir y prevenir enfermedades transmitidas por alimentos (FAO/WHO, 1997, 1999; FAO, 2004).

Una herramienta para reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos y reforzar los sistemas de inocuidad es el análisis de riesgos. Para gestionar los riesgos de seguridad alimentaria es importante identificar en cada alimento sus posibles agentes patógenos y situaciones que puedan conducir a enfermedades transmitidas por ellos y así determinar la magnitud del impacto en la salud humana (Lammerding y Fazil, 2000).

Entre los peligros químicos que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha caracterizado como fuentes importantes de las enfermedades transmitidas por alimentos destaca la contaminación de los productos de la pesca con ficotoxinas (toxinas producidas por las algas) de las especies de plantas comestibles por sus toxinas vegetales y de los cereales con micotoxinas (metabolitos tóxicos de los hongos), siendo esta última, la que mayor importancia ha tomado en relacionado con la inocuidad alimentaria (FAO/OMS, 2003).

El maíz (*Zea mays L.*) es uno de los principales cereales utilizado como fuente de alimento, con una gran cantidad de productos derivados a partir de él; su producción mundial es cercana a los 790 millones de toneladas (CIMMYT, 2010). Según fuentes de la FAO, México en 2013 tuvo una producción de 22,663,953 toneladas (FAOSTAT, 2016). En México, el maíz se consume principalmente en forma de tortillas, es considerado como un alimento básico en la dieta diaria de la población de todos los estratos sociales. El volumen de producción y consumo de este producto derivado de maíz es de 12 millones de toneladas por año (Bressani, 1990; CEDRSSA, 2014).

La transformación del maíz en tortillas requiere un proceso llamado nixtamalización en el que se utiliza agua, calor e hidróxido de calcio. Estos tres elementos influyen en la composición química del maíz elaborado, dando lugar a modificaciones en la estructura del grano (pérdida de ciertas estructuras del grano), composición química (cambios inducidos por el agua, pH y tratamiento térmico), en sus propiedades de funcionalidad (pérdida de fibra por la gelatinización de almidón) y en contenido de nutrientes (desnaturalización de proteínas); sin embargo, los cambios más importantes son en control de la actividad microbiana y los de aroma, sabor y color del producto (Rojas Liora, 1998).

El deterioro de maíz por hongos filamentosos puede ocurrir durante el cultivo, cosecha, almacenamiento, transporte y procesamiento (Bean y Echandi, 1989; Carrillo, 1991; Codex *alimentarius*, 2003). Los hongos filamentosos se pueden clasificar en dos grupos: Los de campo y los de almacenamiento. Los hongos filamentosos de campo incluyen especies que pertenecen al género *Fusarium*; invaden los granos antes de la recolección, de ahí el importante papel de la prevención en campo durante el desarrollo del maíz. Los hongos filamentosos de almacén comprenden especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*, e invaden el grano durante su almacenamiento y son los principales responsables del deterioro de los cereales y piensos (Magan *et al.*, 2004; Farnochi *et al.*, 2005).

Las micotoxinas son los metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos, se desarrollan en productos vegetales y son tóxicos para los seres humanos y animales. Pueden afectar diferentes órganos y sistemas, principalmente el hígado, riñones, el sistema nervioso, endócrino y el sistema inmunológico. Hasta el momento se han identificado más de 300 tipos de micotoxinas; sin embargo, las que pueden encontrarse con mayor frecuencia son: Tricotecenos, Ocratoxinas, Zearalenona, Fumonisinias, y Aflatoxinas (Soriano del Castillo y Burdaspal, 2007).

Las fumonisinias son un grupo de micotoxinas sintetizadas por varias especies del género *Fusarium* y predominan en maíz las especies: *F. verticillioides* y *F. proliferatum* (Marasas, 2001). Se han caracterizado 28 análogos de fumonisinias que pueden ser separados en cuatro grupos principales: A, B, C y serie P. El grupo B es el más frecuente en la naturaleza, siendo la fumonisinina B₁ (FB₁) la más tóxica y abundante y, por lo general, representa entre el 70-80% del contenido total de fumonisinias en alimentos contaminados de forma natural por *Fusarium verticillioides* (Meredith *et al.*, 1999; Stockmann-Juvala y Savolainen, 2008, Torres-Sánchez y López-Carrillo, 2010).

Por otro lado, las aflatoxinas son metabolitos secundarios altamente tóxicos producidos por hongos pertenecientes a varias especies de *Aspergillus*, principalmente, *A. flavus* y *A. parasiticus*. Hasta la fecha se han identificado 18 tipos de aflatoxinas, pero las únicas que tienen importancia como contaminantes de los alimentos son las aflatoxinas: B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ y M₂ (Aguilar *et al.*, 1993; Soriano del Castillo y Burdaspal, 2007).

En México, la Norma NOM-188-SSA1-2002 establece que las aflatoxinas en maíz no deben exceder un nivel de 20 µg/kg y la Norma NOM-187-SSA1/SCFI-2002 establece que la concentración de aflatoxinas en tortilla de maíz nixtamalizado y de harina de maíz nixtamalizado, no debe exceder un nivel de 12 µg/kg; a pesar de esto, existen reportes que evidencian la presencia de aflatoxinas por encima de la norma en los campos de maíz en México (García y Heredia, 2006; Guzmán de Peña, 1989; Robledo *et al.*, 2001; Torres Espinosa *et al.*, 1995).

Diversos estudios afirman que durante la nixtamalización ocurre una reducción de entre 85 y 95 % en el contenido de aflatoxinas (Anguiano-Ruvalcaba *et al.*, 2005; Dombrink-Kurtzman y Dvorak 1999; Méndez-Albores *et al.*, 2004; Elias-Orozco *et al.*, 2002) y mayor al 90 % para las fumonisinas (Palencia *et al.*, 2003; Torres-Sánchez y López-Carrillo 2010); Sin embargo, ninguno de ellos caracteriza el efecto de las variables del proceso sobre la disminución de estas micotoxinas durante la nixtamalización. A pesar de esta reducción, existe evidencia que debido al alto contenido inicial de micotoxinas en maíz, las cantidades residuales al final del proceso de nixtamalización llegan a rebasar los límites legales (Castillo-Urueta *et al.* 2011). Esto establece la necesidad de realizar un análisis que permita caracterizar la exposición al riesgo por consumo de estas toxinas.

Las metodologías más utilizadas para realizar un análisis de riesgo alimentario son del tipo determinístico, en las cuales se utilizan estimadores puntuales como variables de entrada (contaminación media, mediana, peor escenario) por lo que, obtienen como resultado estimaciones puntuales de riesgo (probabilidad media, probabilidad bajo el peor escenario) (Ariño *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2012). Esta investigación tuvo como objetivo establecer una metodología probabilística para obtener información necesaria para ser utilizada como variable de entrada y así, construir funciones de densidad de probabilidad y evaluar probabilísticamente el riesgo por exposición a aflatoxinas y fumonisinas de los consumidores de tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz. Esta tesis se realizó en la Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz, en el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD) y la Universidad de Bretaña Occidental (UBO), en co-tutela con esta última.

2 ANTECEDENTES

2.1 Evaluación de riesgo

La inocuidad alimentaria es un tema fundamental de salud pública, las enfermedades transmitidas por los alimentos como consecuencia de patógenos microbianos, contaminantes químicos y micotoxinas representan graves amenazas para la salud, además de consecuencias económicas para las personas, empresas y organismos de salud (FAO/WHO, 1999).

La exportación hace necesaria la regulación de los productos con cierto nivel de confianza para los importadores y consumidores. El acceso de los países a los mercados de exportación de los alimentos depende, entre otras cosas, de su capacidad para cumplir los reglamentos de los países importadores. A pesar de ello, se han documentado en todos los continentes graves brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), lo que demuestra la importancia del cumplimiento de las normas desde el punto de vista social y de la salud pública. Los peligros pueden estar presentes en la cadena alimentaria desde sus primeras etapas, continuando y agravándose en cualquiera de sus procesos, por ello, los programas de inocuidad de los alimentos se llevan a cabo desde que la materia prima se encuentra en el campo hasta que ésta llega a la mesa del consumidor y se ha revelado como un medio eficaz para reducir los agentes causantes de enfermedades que se encuentran en los alimentos (FAO/WHO, 1999; FAO, 2004).

Los programas de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) han sido útiles para hacer frente a los riesgos asociados con la contaminación de productos alimenticios y sustancias químicas tóxicas. Hoy en día, el realizar un análisis de riesgos basado en un mejor conocimiento científico de las enfermedades transmitidas por los alimentos y sus causas brinda una mejor prevención con las medidas regulatorias en la inocuidad de los alimentos (Hoornstra y Notermans, 2001).

Aunque no es posible eliminar por completo estos tóxicos, mediante el análisis de riesgos basado en conocimientos científicos, es posible definir la concentración en alimentos (tolerancias, niveles de referencia, límites máximos para residuos) cuya probabilidad de constituir un problema para la salud sea baja. Estos niveles serán útiles para armonizar los reglamentos y procedimientos de control facilitando el comercio internacional de alimentos (JECFA, 1999).

El análisis de riesgo alimentario es definido por la FAO/OMS (1999) como una evaluación científica de los efectos perjudiciales, conocidos o potenciales, resultantes de la exposición humana a los riesgos derivados de los alimentos y consta de las siguientes etapas:

Identificación del peligro: Permite describir los efectos negativos del contaminante y alcance de la población que puede estar en situación de riesgo. Cuando no se dispone de datos humanos suficientes procedentes de estudios epidemiológicos, con frecuencia se recurre a resultados de estudios toxicológicos en animales de laboratorio y estudios *in vitro*.

Caracterización del peligro: En esta etapa se describen y evalúan las relaciones dosis-respuesta de los efectos nocivos que se tengan documentados. En los casos en que el efecto tóxico es resultado de un mecanismo que tiene un umbral, la caracterización del riesgo da lugar al establecimiento de un nivel inocuo de ingesta, es decir, un ingesta diaria aceptable (IDA) o tolerable (IDT) de dichos contaminantes.

Evaluación de la exposición: Se describe la exposición correspondiente a un peligro y estima la ingesta total. En el caso de las sustancias químicas, la evaluación de la exposición utiliza con frecuencia valores puntuales, como la media, mediana o el percentil 95. El resultado de la evaluación de la exposición se compara con la IDA a fin de determinar si las exposiciones estimadas a las sustancias químicas en los alimentos se encuentran dentro de límites inocuos.

Caracterización del riesgo: Se describe como una exposición que presentaría un “nivel teórico cero”. Es decir, el nivel adecuado de protección (NAP) se sitúa por debajo de una dosis asociada con una probabilidad significativa de daños para la salud. Las normas suelen basarse en los escenarios de exposición más pesimistas con el fin de mantener el riesgo por debajo del nivel adecuado de protección.

La decisión de realizar una evaluación de riesgos dependerá de numerosos factores tales como: la prioridad que el problema de salud pública tenga, las necesidades regulatorias o la disponibilidad de datos (FAO/OMS, 2006).

Según la FAO/OMS, (2006) es conveniente realizar una evaluación de riesgos cuando:

- La cadena agroalimentaria a través de la cual se expone al peligro es compleja.

- No existen o están incompletos los datos sobre el peligro y sus impactos a la salud pública.
- El problema es de significancia para los sistemas regulatorios.
- Existe la necesidad de fundamentar con datos experimentales una medida regulatoria de gestión de riesgos (medida precautoria) que fue tomada por razones de urgencia.

El análisis de riesgos alimentario es competencia de las autoridades nacionales o internacionales que sean responsables de la inocuidad de los alimentos. En el plano internacional, los comités del Codex que recomiendan normas sobre la inocuidad de los alimentos desempeñan funciones de gestión de riesgos. La evaluación de riesgos en apoyo de la formulación de normas del Codex sobre la inocuidad de los alimentos es realizada por tres organismos mixtos de expertos de la FAO/OMS: el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA); la Reunión Conjunta sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR) y las Reuniones Conjuntas FAO/OMS sobre Evaluación de Riesgos Microbiológicos (JEMRA). Algunas veces se presentan evaluaciones adicionales de riesgos realizadas por consultas de expertos especiales y por gobiernos miembros que han llevado a cabo sus propias evaluaciones (FAO, 2004).

Los comités del Codex actúan como gestores de riesgos y su función es organizar y dirigir el proceso en la toma de decisiones, analizan los resultados de las evaluaciones de riesgos y otros factores legítimos, como la viabilidad de las opciones de gestión de riesgos y los intereses de los miembros del Codex, y recomiendan normas para proteger la salud pública y garantizar prácticas leales en el comercio de alimentos. Entre sus actividades se pueden incluir la elaboración de los instrumentos de gestión de riesgos conocidos como textos conexos, por ejemplo, orientaciones, códigos de práctica y planes de muestreo, y normas para combinaciones específicas de alimentos-peligros. El Codex no adopta medidas de mitigación de riesgos, la aplicación, observación y seguimiento son competencia de los gobiernos y las instituciones internacionales. Por el contrario, las autoridades nacionales encargadas de la inocuidad de los alimentos son las responsables de realizar el análisis de riesgos en su totalidad (FAO/OMS, 2002).

El proceso de análisis de riesgos comienza con la gestión de riesgos, para definir el problema, especificar los objetivos del análisis de riesgos e identificar los interrogantes que deberán encontrar respuesta en su evaluación, si fuere necesario. Las tareas de base científica consistentes en medir y describir la naturaleza del riesgo analizado se llevan a cabo durante la fase de evaluación de riesgos (FAO/OMS, 2004).

Es posible utilizar métodos distintos para evaluar tipos diferentes de problemas de inocuidad de los alimentos. Los métodos varían en función de la clase de peligro (químico, biológico o físico), el escenario de inocuidad de los alimentos (por ejemplo, en relación con peligros conocidos, peligros emergentes, nuevas tecnologías como la biotecnología, trayectorias de peligros de gran complejidad, como la resistencia antimicrobiana) y el tiempo y los recursos disponibles (FAO/OMS, 2004).

El resultado en una evaluación de riesgos se puede expresar de manera cualitativa o cuantitativa. Las evaluaciones de riesgos cualitativas realizan un tratamiento descriptivo de la información por ejemplo indicando un nivel elevado, medio o bajo, generalmente incluye la evaluación instintiva o “por corazonada” de una situación, y se caracteriza por afirmaciones como “Eso parece muy arriesgado” o “Probablemente se obtendrán buenos resultados”. Las evaluaciones cuantitativas pueden formular modelos de los efectos de las diferentes intervenciones, lo que constituye probablemente su principal ventaja. Este segundo tipo de evaluaciones es preferible, siempre y cuando se cuente con información adecuada (Palisade, 2016).

Las evaluaciones cuantitativas de riesgos pueden dividirse en dos categorías: determinísticas (estimación puntual) y categóricas (probabilística o estocástica). Las evaluaciones determinísticas se aplican a un planteamiento en el que se utilizan valores puntuales numéricos en cada uno de los pasos de la evaluación de riesgos, por ejemplo, la media, mediana o el percentil 95 de los datos medidos (como la ingesta de alimentos o los niveles de residuos) por lo tanto se obtendrá como resultado final una estimación puntual del riesgo (probabilidad media o probabilidad bajo el peor escenario). Los planteamientos deterministas se emplean habitualmente en la evaluación de los riesgos químicos (Lammerding y Fazil, 2000; FAO/OMS, 2006).

2.1.1 Evaluación probabilística de riesgo

La evaluación probabilística o estocástica considera toda la información científica disponible para generar declaraciones de probabilidad de eventos individuales, que se combinan para determinar la probabilidad de un resultado adverso para la salud. Para ello se requiere la elaboración de modelos matemáticos sobre la variabilidad de los fenómenos implicados, y la asignación final del riesgo es una distribución de probabilidad. Los modelos estocásticos (probabilístico) se utilizan luego para crear y analizar diferentes escenarios de riesgo. Este planteamiento se considera en general más representativo del mundo real, pero los modelos estocásticos muchas veces son complejos y su generación presenta dificultades (Lammerding y Fazil, 2000; FAO, 2006). La decisión final sobre llevar a cabo un análisis de riesgo de manera cualitativa o cuantitativa depende de los recursos que se tengan como variables de entrada en La Figura 2.1 se muestra una comparación entre el tipo de evaluación adecuada dependiendo de los recursos con los que se cuente (FAO/OMS, 2005).

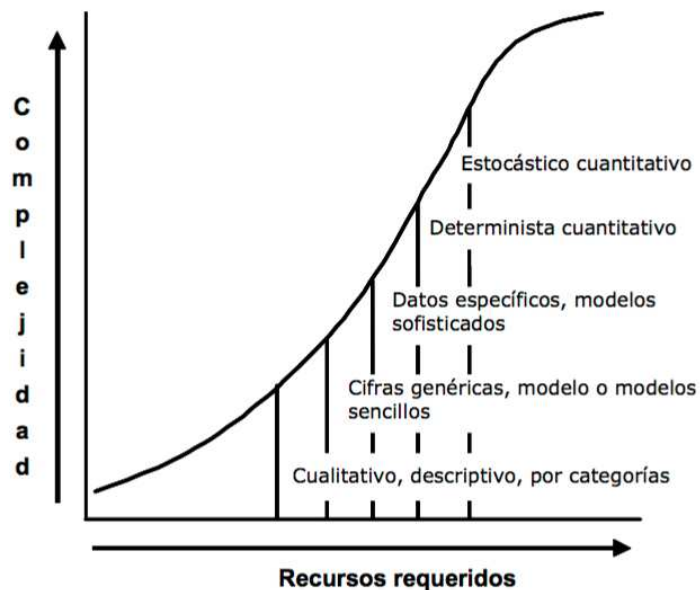


Figura 2. 1 Evaluación de riesgos de acuerdo a su complejidad y los recursos disponibles (FAO/OMS, 2006)

La evaluación probabilística de riesgo alimentario implica cuantificar la probabilidad de que se produzcan efectos perjudiciales para la salud debido a peligros presentes en alimentos. El objetivo de realizar este tipo de análisis es encontrar una expresión matemática probabilística para la aparición de efectos adversos en la salud, resultado de la exposición a un agente capaz de causar daño, logrando una aproximación probabilística para el proceso de decisión sobre seguridad alimentaria (FAO/OMS, 2005).

En muchas ocasiones, debido a la limitada cantidad de datos disponibles, es difícil realizar una evaluación probabilística de riesgo, es indispensable contar con información como: la dosis y concentración del agente contaminante, la ingesta alimentaria y la masa corporal de los individuos (JECFA, 2001).

Medir el nivel de consumo alimentario en una población requiere de rigurosos procedimientos, aunque existen diferentes metodologías para recolectar datos. Los cuestionarios de consumo alimentario son la estrategia efectivas para obtener esta información. La metodología de los cuestionarios de consumo alimentario se puede dividir en dos grupos: métodos de registro y métodos de recordatorio. Los métodos de registro son prospectivos y pueden durar uno o varios días, se basan en la construcción de un registro de la cantidad de alimentos consumido, ya sea pesándolos o por estimación. Los métodos recordatorios son técnicas retrospectivas, las más comunes son: El cuestionario del día anterior: se basa en que la persona encuestada describe los alimentos

consumidos en las 24 h anteriores, el segundo método es llamado ingesta diaria usual o cuestionario de frecuencia de consumo en el que el encuestado responde la periodicidad en su dieta de alimentos específicos (Kroes *et al.* 2002; Sutor *et al.* 2007).

No existe un método ideal, para seleccionar un método efectivo para el monitoreo del consumo alimentario es importante tener conocimiento de las ventajas y desventajas de las distintas metodologías (Coates y Monteilh, 1997). Entre las ventajas de los métodos de recordatorio resalta que: requieren de un entrenamiento mínimo, además son realizados en una sola visita, algunas de sus desventajas son: que dependen de la memoria a largo plazo del encuestado, además de la necesidad de que tenga información fiable de sus patrones de consumo y la dificultad de registrar el tamaño y la cantidad de porciones de los alimentos consumidos. Los métodos de registro tienen potencial para suministrar información cuantitativa más precisa del consumo de alimentos durante periodos cortos, involucran menos relación con memoria a largo plazo, la omisión de alimentos es mínima. las principales desventajas de este tipo de cuestionarios son que requieren gran motivación del evaluado, puede influenciar hábitos, que requieren de múltiples visitas, si no se realizan en diversos días no miden la ingesta habitual (Thompson y Byers, 1994; Biro *et al.*, 2002; Adamson *et al.*, 2009). Ambos cuestionarios son capaces de clasificar a la población en diversos grupos, realizando una comparación e identificando sus conductas (Yanek *et al.*, 2000).

Los cuestionarios de frecuencia de consumo representan una herramienta esencial en las áreas de epidemia nutricional y para evaluar la relación entre dieta y salud y los riesgos a los que está expuesta la población. Los cuestionarios de consumo han sido utilizados para evaluar el consumo de chocolate (Vicente *et al.* 2016), ingesta de alcohol (Keller *et al.* 2014; Schrieks *et al.* 2015), consumo de mariscos en regiones (Picot *et al.* 2010), siendo utilizados como primer paso para realizar una evaluación probabilística de riesgo (Picot *et al.* 2011).

Uno de los errores más comunes que se pueden cometer es hacer conclusiones generales a partir del análisis de sólo una parte de la población que no representa al total, la generalización de resultados de un muestra pequeña a un universo conlleva aceptar que se comete cierto error, a este tipo de error se denomina error de muestreo. Para realizar un estudio y concluir de manera que afecte a una población determinada se necesita asegurar que la muestra sea representativa de la población. El muestreo es el procedimiento para seleccionar un conjunto de individuos de una población con el fin de estudiarlos y poder caracterizar el total de la población. Este proceso permite ahorrar recursos, y a la vez obtener

resultados parecidos a los que se alcanzarían si se realizase un estudio de toda la población (Mira *et al.*, 1997).

Existen diversos criterios con los cuales se puede clasificar los tipos de muestreo que se dividen en dos: métodos de muestreo aleatorios y no aleatorios (Sandelowski, 2000). Los métodos de muestreo aleatorios o probabilísticos se basan en el principio de equiprobabilidad, es decir, que todos los individuos deben tener la misma probabilidad de ser seleccionados para formar parte de una muestra. Este tipo de muestreo es el más recomendable y debe cumplir con 2 características: los elementos de la población tienen una probabilidad mayor de cero de ser seleccionados y se conoce la probabilidad para cada elemento (marco muestral); sin embargo, en ocasiones, disponer del marco muestral, lograr que todos los individuos sean seleccionables es imposible cumplir y se recurre al muestreo no aleatorio en el que las muestras son seleccionadas por métodos que intentan ser representativas bajo los criterios del investigador, pero en ningún caso garantizan la representatividad. Algunos ejemplos son: muestreo por cuotas, por conveniencia, por bola de nieve, casual o accidental y por juicio (Waksberg, 1978; De Loera, 2016).

2.1.2 Método Monte Carlo

La evaluación probabilística de riesgos puede ser analizada empleando técnicas analíticas. Una solución analítica es emplear el análisis Monte Carlo, el cual es una técnica matemática basada en la selección aleatoria y probabilística de un valor puntual de cada función de distribución de probabilidad que es utilizada como variable de entrada. Esta secuencia de interacciones aleatorias de valores puntuales son repetidas cientos o miles de veces, con un grupo diferente de valores para cada variable de entrada seleccionada en cada iteración. Los valores que con mayor probabilidad aparecen están en función de la distribución de probabilidad que caracteriza la variable. El resultado de este proceso es una distribución de frecuencia para la variable de interés que es el producto de valores y frecuencias de las variables de entrada, que en ocasiones es representada por una función de

densidad de Probabilidad (PDF). De esta forma, la simulación Monte Carlo proporciona una visión mucho más completa de lo que puede suceder, indica no sólo lo que puede suceder, sino la probabilidad de que suceda (Duffy y Schaffner, 2002; Palisade, 2016).

2.1.3 Función de Densidad de Probabilidad

Una función de densidad de probabilidad caracteriza el comportamiento probable de una población y es una función f cuyo dominio es un intervalo (a, b) que tiene las siguientes propiedades:

$$1. f(x) \geq 0$$

$$2. \int_a^b f(x)dx = P(a \leq x \leq b)$$

$$3. \int_{-\infty}^{+\infty} f(x)dx = 1$$

Debe ser una función no negativa, el área total encerrada bajo la curva debe ser igual a 1. La probabilidad de que x tome un valor en el intervalo (a, b) es el área bajo la curva de la función de densidad en ese intervalo o lo que es lo mismo, la integral definida en dicho intervalo (Abramowitz y Stegun, 1972; Evans *et al.*, 2000). Según Palisade (2016) y Minitab, (2016) las distribuciones de probabilidad más comunes son:

Normal: Es una distribución simétrica, Los valores intermedios cercanos a la media tienen mayor probabilidad de producirse. Describe muchos fenómenos naturales, como puede ser la estatura de una población.

Lognormal: Los valores muestran una clara desviación; no son simétricos como en la distribución normal. Se utiliza para representar valores no menores a cero, pero tienen un potencial positivo ilimitado. Ejemplos de variables descritas por la distribución lognormal son los valores de las propiedades inmobiliarias y bienes raíces, los precios de las acciones de bolsa y las reservas de petróleo.

Uniforme: Todos los valores tienen las mismas probabilidades de producirse; el usuario sólo tiene que definir el mínimo y el máximo. Ejemplos de variables que se distribuyen de forma uniforme son los costos de manufacturación o los ingresos por las ventas futuras de un nuevo producto.

Triangular: El usuario define los valores mínimo, más probable y máximo. Los valores situados alrededor del valor más probable tienen más probabilidades de producirse. Las variables que se pueden describir con una distribución triangular son el historial de ventas pasadas por unidad de tiempo y los niveles de inventario.

Exponencial: Es utilizada para modelar procesos de Poisson, en los cuales los eventos ocurren de manera continua e independiente a una tasa constante, esta distribución tiene una amplia gama de aplicaciones: Cuánto tiempo tarda un componente electrónico en fallar, el intervalo de tiempo entre las llegadas de clientes a una terminal, el tiempo que esperan los clientes en fila hasta recibir servicio, el tiempo hasta que se declara el incumplimiento de un pago (modelos de riesgo de crédito), la distancia entre mutaciones en una cadena de ADN, el tiempo para la desintegración de un núcleo radiactivo.

Gamma: Es una distribución adecuada para modelar el comportamiento de variables aleatorias continuas con asimetría positiva, es decir, variables que presentan una mayor densidad de sucesos a la izquierda de la media que a la derecha. Es una distribución flexible para modelar las formas de asimetría positiva, de las más concentradas y puntiagudas, a las más dispersas y achatadas. Ejemplos de variables que se comportan así: número de individuos involucrados en accidentes de tráfico en el área urbana, altura a la que se inician las precipitaciones, tiempos de vida de sistemas electrónicos.

La simulación Montecarlo y las distribuciones de probabilidad son utilizadas en campos tan dispares como finanzas, gestión de proyectos y medio ambiente (Ross, 2016), estimar concentraciones de bacterias (Pouillot *et al.*, 2013), y análisis de riesgo alimentario (Sugita-Konishi *et al.*, 2010).

2.2 Importancia del maíz en México y a nivel mundial

La evidencia arqueológica indica que el maíz existió como un precursor silvestre hace 7 mil años en la región central de México (MacNeish, 1967). Dos mil años más tarde, el maíz fue cultivado por el hombre y utilizado como alimento durante el desarrollo de las civilizaciones Mesoamericanas (Asturias, 1975; Rojas, 1988).

El maíz es utilizado como alimento humano y animal, como fuente de energía renovable de combustibles y en la industria, como materia prima para la fabricación

de aceites, edulcorantes, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, pinturas y jabones; sin embargo, el uso alimenticio más importante es el del grano de maíz blanco para la alimentación humana; el grano de maíz es el tercer cereal más consumido, después del arroz y el trigo. Estos tres granos concentraron el 90 % de la producción mundial en el ciclo 2012-2013. La producción mundial de maíz es de aproximadamente 160 millones de hectáreas, con Estados Unidos como el mayor productor (21 %), seguido por China (20 %), Brasil (8 %), India y Unión Europea (5 % cada uno) y México (4 %) (FAOSTAT, 2016). La Figura 2.2 muestra el consumo *per capita* de maíz a nivel mundial.

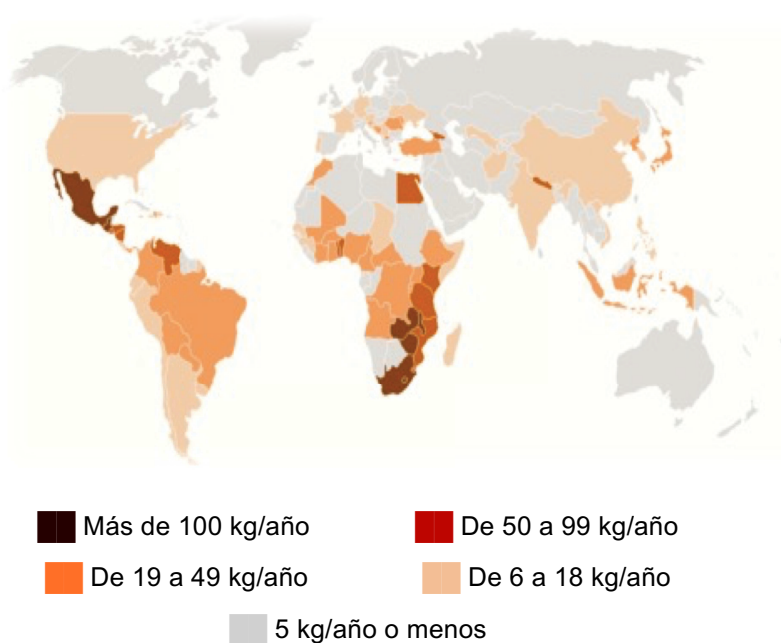


Figura 2. 2 Tasa de consumo *per capita* de maíz a nivel mundial (CIMMYT, 2010)

El maíz es el cultivo más importante en México, con dos ciclos anuales de producción primavera -verano y otoño – invierno. Aproximadamente el 90 % de la producción nacional es cultivada en el ciclo primavera – verano, que es cosechada entre octubre y diciembre (CEFP, 2009). Aunque todos los estados producen maíz, siete de ellos concentran el 64.5 % de la producción nacional, siendo Sinaloa el principal productor con el 16.5 % del total, seguido de Jalisco, Michoacán, Estado de México, Chiapas, Guerrero y Veracruz (SHCP, 2014).

Existen dos variedades, el blanco y amarillo, el primero es principalmente para consumo humano y el maíz amarillo se destina al consumo animal y a la industria de almidones y cereales. En México el maíz blanco es producido y consumido en su totalidad, las 22 millones de toneladas producidas no son suficientes para satisfacer la demanda nacional por lo que 9 millones de toneladas son importadas principalmente de Estados Unidos. Aproximadamente, la mitad del maíz producido es consumido a través de diversos alimentos tradicionales, principalmente atole, tamales, chilaquiles, antojitos y especialmente la tortilla, la cual emplea el 60 % de la producción destinado a la alimentación (SE, 2012). Según el registro del sistema de información empresarial de la secretaría de economía, existen registradas 2,510 tortillerías y 520 molinos de nixtamal en todo el país, de las cuales 209 tortillerías se encuentran en el estado de Veracruz y 21 en la ciudad de Veracruz (SNIIM, 2015), sin embargo la Cámara Nacional de Maíz Industrializado tiene registradas a más de 45 mil tortillerías a nivel nacional.

2.3 Factores que afectan la calidad del maíz

El maíz (*Zea mays*) es destinado como materia prima para la elaboración de una amplia gama de productos alimenticios para humanos y animales. Los factores ambientales (temperatura, humedad, plagas y enfermedades) en el campo y el manejo que se le dé a los granos durante el almacenamiento determinará su calidad (Wilson y Jay, 1975).

Dentro de los factores biológicos que afectan la calidad del maíz se pueden considerar organismos vivos que atacan de manera directa a los granos. Se clasifican en dos tipos: macrobiológicos, que comprende organismos tales como roedores, pájaros, rumiantes y otros mamíferos, y los microbiológicos, que comprenden a las bacterias y hongos (Marín *et al.*, 2012).

2.4 Hongos filamentosos toxigénicos presentes en el maíz

Los hongos que infectan los granos se desarrollan a temperaturas mayores de 25 °C, siendo su rango óptimo de crecimiento entre 28 y 32 °C, siempre que exista suficiente humedad ambiental disponible (< 65 %). De acuerdo a sus necesidades de humedad se pueden clasificar en: Hidrófitos (90 % de Humedad Relativa), Mesófitos (80-90 %) y Xerófitos (80 %) (Christensen y Kaufmann, 1976).

Los hongos que atacan a los granos de maíz son clasificados en dos categorías: hongos de campo y hongos de almacén. Los hongos de campo atacan durante el desarrollo del cultivo, y

dependen de las condiciones ambientales, requieren de un alto contenido de humedad interna en el grano para crecer (22 - 25 %), por lo que son poco controlables, en contraste a los hongos de almacén que son más controlables con buenas prácticas de acondicionamiento y de conservación; sin embargo, son capaces de crecer con bajos contenidos de humedad en el grano (15 %) (Gimeno y Martins, 2003).

Los granos de maíz pueden almacenarse con seguridad bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad relativa cuando contienen el porcentaje de humedad interna adecuado, por ejemplo, granos de maíz con 14% de humedad pueden ser almacenados a 32 °C y 75% de humedad relativa, pero si el contenido de humedad aumenta a 16%, el deterioro por hongos empezará rápidamente (Nuestro Agro, 1994).

Los hongos utilizan para su crecimiento sustancias químicas denominadas metabolitos primarios, como pueden ser ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos mayoritariamente. El uso de estos metabolitos primarios se asocia en la fase de rápido crecimiento. Los metabolitos secundarios son una serie de compuestos que no son esenciales para el crecimiento vegetativo en cultivo puro. Dentro de este grupo, están los antibióticos y las micotoxinas. Las micotoxinas se suelen formar al final de la parte exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho. La Tabla 2.1 muestra los principales hongos productores de micotoxinas y los alimentos susceptibles a su contaminación (Pitt y Hocking, 1996).

Tabla 2. 1 Principales hongos productores de micotoxinas y alimentos en los que pueden desarrollarse (Pitt y Hocking, 1996)

Hongo	Micotoxina	Alimento
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxina, Esterigmatocistina, Ocratoxina.	Maíz, nuez, pistache, cacahuete, soya, cebada, girasol, coco, arroz, trigo, avena.
<i>Fusarium</i>	Fumonisina, Tritoceno, Zearalenona, Moniliformina.	Maíz, sorgo, frijol, trigo, avena.
<i>Penicillium</i>	Patulina, Citrina, Ocratoxina.	Maíz, cacahuete, cebada, trigo, arroz, avena, café.
<i>Alternaria</i>	Alternariol.	Maíz.
<i>Claviceps</i>	Alcaloides.	Maíz, Trigo.

Las micotoxinas pueden contaminar a los alimentos, o los piensos, originando un riesgo para los seres humanos y animales, por lo que debe ser prioridad de las industrias alimentarias y agraria la prevención de su entrada en la cadena alimentaria. Entre la gran cantidad de hongos productores de

micotoxinas que pueden crecer en maíz destacan los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* (Whitaker, 2006; Pitt y Hocking, 2009).

2.4.1 El género *Aspergillus*

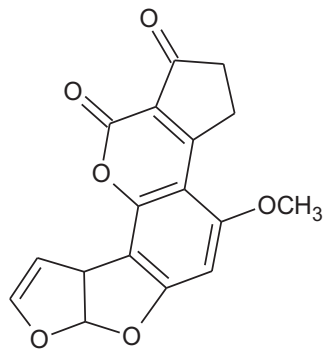
Los hongos filamentosos del género *Aspergillus* invaden los granos de las plantas durante el almacenamiento y son los principales causantes del deterioro de cereales y piensos, crecen a humedades relativas ambientales entre el 70% y 90% y un contenido de agua en semillas entre el 13% y 18%, el rango de temperaturas al cual se le puede encontrar es entre 5 y 45 °C. Los *Aspergillus* son productores de micotoxinas, dependiendo de la especie que se trate será la micotoxina producida. *Aspergillus flavus* produce principalmente aflatoxinas B₁ y B₂, *Aspergillus parasiticus* aflatoxinas B₁, B₂, G₁, y G₂ y *Aspergillus nomius* Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ (Yuef *et al.* 2013).

2.4.1.1 Toxicidad de las toxinas del género *Aspergillus*

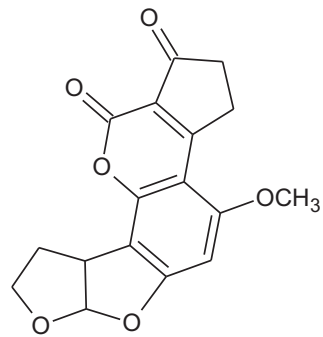
Son metabolitos secundarios formados bajo condiciones de estrés como agotamiento de nutrientes, factores de estrés ambiental y desarrollo fisiológico. Se han identificado 20 tipos de aflatoxinas, siendo las más relevantes desde el punto de vista de seguridad alimentaria las B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ y M₂. Dentro de ellas destaca la B₁ por ser la más tóxica, prevalente y por encontrarse en mayor concentración en alimentos y piensos contaminados (Yogendrarajah *et al.*, 2016).

Químicamente son compuestos fluorescentes con una estructura cumárica condensada, un bifurano y una pentona (aflatoxinas B) o una lactona (aflatoxinas G). Las letras B y G se refieren a la coloración de la fluorescencia, azul y verde, que emiten bajo luz ultravioleta a 365 nm. Son insolubles en solventes apolares y solubles en solventes polares, principalmente en metanol. Algunos estudios indican que se puede reducir su contenido en alimentos con tratamientos ácidos, alcalinos, por radiación y temperaturas superiores a 100 °C; sin embargo, para eliminarlas por completo deben ser sometidas a 237 y 300 °C (ICMSF, 1996; Hierro *et al.*, 2008).

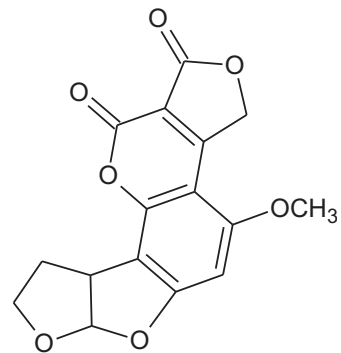
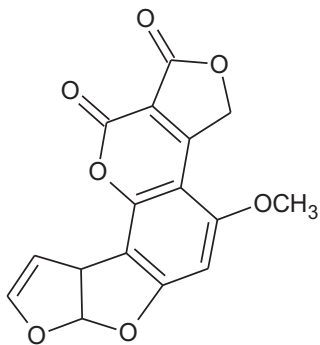
La aflatoxina B₁ (AFB₁) está entre los más potentes cancerígenos conocidos. Su acción cancerígena se basa en la biotransformación por el sistema hepático microsomal P450 a AFB₁-8,9-epóxido, un metabolito altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, al ADN y al ARN, formando un compuesto estable con el N7 de los residuos guanil que puede causar mutaciones en el codón 249 del gen p53 supresor de tumores. Esta alteración es característica de varios cánceres, especialmente del cáncer hepático en el hombre. El AFB₁-8,9-epóxido forma uniones covalentes con los residuos de guanina del ADN, que se excretan por vía urinaria y pueden utilizarse como biomarcadores de exposición en los grupos con riesgo de cáncer de hígado (Tobergte y Curtis, 2013; Yuef *et al.* 2013). La estructura química de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, se puede observar en la Figura 2.3.



AFB1



AFB2



AFG1

AFG2

Figura 2. 3 Estructura química de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂

2.4.1.2 Legislación para las toxinas del género *Aspergillus*

La dieta alimentaria es un factor importante de riesgo para el desarrollo de muchos tipos de cáncer; sin embargo, es difícil establecer la ruta específica por la cual un agente químico o mezcla de agentes químicos causan un daño a la salud. La ingesta de alcohol (cáncer de cavidad oral, faringe, esófago y de mama) y de alimentos contaminados con aflatoxinas han sido claramente documentados como factores de riesgo en humanos (Key *et al.*, 2002; Carvajal *et al.*, 2012).

Muchos países, basados en la evidencia obtenida de evaluación de riesgos, han implementado límites regulatorios para la aflatoxina B₁ (AFB₁) y aflatoxinas totales (AFt) en alimentos, para evitar el consumo de estos contaminantes (FAO, 2004). La comisión del Codex alimentario adoptó un nivel máximo de 15 µg kg⁻¹ para AFT en cacahuates no procesados y nueces de árbol, y 10 µg kg⁻¹ para nueces listas para consumir. En la Unión Europea, los límites máximos de AFB₁ y AFt son 2 y 4 µg kg⁻¹ (Commission regulation, 2006).

Se han realizado estudios para estimar el valor de la ingesta diaria tolerable (TDI). Hoseynil realizó un estudio para modelar el riesgo de cáncer de hígado realizando una evaluación de un coeficiente de dosis-respuesta estimado para aflatoxina, aplicado a las tasas de referencia de Estados Unidos, estimando una TDI de 253 a 441 ng d⁻¹, correspondiendo a una persona de 70 kg. Bruce, (1990) estimó un TDI de 322 ng/día para una persona de las mismas características (Hoseynil, 1992).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios sugirió reducir la presencia de aflatoxinas y otros cancerígenos y genotóxicos a niveles tan bajos como sean razonablemente posibles, ya que la JECFA y SCF (SCF, 1994; JECFA, 1999) reportan que aún niveles tan bajos como 1 ng kg⁻¹ pc d⁻¹ pueden inducir casos de cáncer de hígado.

Dado el daño potencial que las aflatoxinas pueden ejercer sobre la salud, la Secretaria de Salud en México estableció la norma oficial NOM-188.SSA1-2002 (Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias) para que en los cereales no se exceda una concentración de 20 µg kg⁻¹ de aflatoxinas totales (AFt), y la la Norma Oficial mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002 (Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas

preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba) la cual especifica que las aflatoxinas en tortilla de maíz nixtamalizado y de harina de maíz nixtamalizado, no deben exceder un nivel de $12 \mu\text{g kg}^{-1}$.

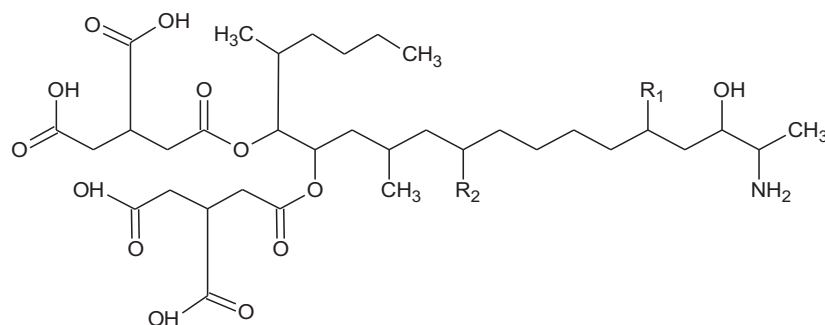
2.4.2 El género *Fusarium*

Los hongos filamentosos del género *Fusarium* son productores de diversas micotoxinas como Deoxinivalenol, Zearalenona, Toxina T_2 , HT_2 y Fumonisinias. Las prácticas de labranza, la rotación de cultivos, el control de malezas, la pluviosidad en la etapa tardía, el viento y los vectores de plagas son factores que influyen en la cantidad y origen del inóculo fúngico que mantiene el ciclo de la enfermedad del maíz. Las especies de *Fusarium* que dan lugar a las fumonisinias son: *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. nygami*, *F. napiforme*, *F. oxysporum* y *F. polyphialidicum* (Lucas, 2011).

Si bien los *Fusarium* son considerados hongos de campo, no se debe olvidar su capacidad para sintetizar toxinas en cereales almacenados, sobre todo en malas condiciones de almacenamiento cuando los granos no son suficientemente desecados después de la cosecha y cuando la temperatura en el lugar de almacén no es controlada adecuadamente. *Fusarium verticillioides* es de los *Fusarium* más xerófilos, capaz de sintetizar fumonisinias con valores de actividad de agua (a_w) de 0.93 (Marín *et al.*, 2013).

2.4.2.1 Toxicidad de las toxinas del género *Fusarium*

Las fumonisinias son una clase de micotoxina producida principalmente por *Fusarium verticillioides* y *e* cuando crecen en maíz. Se han caracterizado hasta 28 análogos de fumonisinias que pueden ser separados en cuatro grupos principales: A, B, C y serie P. El grupo B es el que más se aísla en la naturaleza, siendo la fumonisina B_1 la más tóxica y abundante, por lo general, representa entre el 70-80 % del contenido total de fumonisinias en alimentos contaminados de forma natural por *Fusarium verticillioides*. La estructura de las fumonisinias se caracteriza por tener una unidad hidrocarbonada larga similar a la de la esfingosina y esfingonina (Lucas, 2001). La estructura fumonisinias B_1 , B_2 , B_3 y B_4 se muestran en la Figura 2.4.



	R1	R2	Fórmula química
Fumonisina B ₁	OH	OH	C ₃₄ H ₅₉ O ₁₅
Fumonisina B ₂	OH	H	C ₃₄ H ₅₉ O ₁₄
Fumonisina B ₃	H	OH	C ₃₄ H ₅₉ O ₁₄
Fumonisina B ₄	H	H	C ₃₄ H ₅₉ O ₁₃

Figura 2. 4 Estructura química de fumonisinas B₁, B₂, B₃ y B₄

De todas las fumonisinas caracterizadas, las FB₁ y FB₂ son las que suelen detectarse en concentraciones más elevadas en maíz contaminado y son clasificadas por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) desde 1993 dentro del grupo 2B como “posible cancerígeno en humanos”, pues existe limitada evidencia sobre humanos pero suficiente en animales (IARC, 2002). Las fumonisinas presentan una similitud estructural con las bases esfingoides y alteran las rutas metabólicas de los esfingolípidos inhibiendo su síntesis. Esta alteración genera toxicidad en ciertos órganos y sistemas, sobre todo en cerebro, hígado y riñón donde estas micotoxinas se acumulan. En estudios a largo plazo en ratas y ratones se observan carcinomas hepáticos y carcinomas renales tubulares. En caballos, la exposición a fumonisinas produce un cuadro agudo-subagudo de leucoencefalomalacia y en cerdos aparece un cuadro de edema pulmonar agudo (Stockmann-Juvala y Savolainen 2008).

En humanos se han realizado diversos estudios epidemiológicos sobre la posible relación entre la ingesta de fumonisinas y el desarrollo de cáncer (Fandohan *et al.*, 2003; Mwalwayo & Thole 2016). Shephard *et al.* (2013), en la región del Transkei (Sudáfrica) llevaron a cabo un estudio en el que participaron 54 mujeres aparentemente en buen estado de salud, cada una donó maíz de su cosecha y cocinaron los alimentos a base de maíz que consumen normalmente. La ingesta de maíz se obtuvo a través de un cuestionario de consumo del tipo recordatorio 24 h. Muestras de la primera orina matutina de cada una de las participantes fueron analizadas por LC-MS/MS para determinar la

exposición múltiple de biomarcadores en cáncer de esófago. La ingesta diaria estimada fue de $1.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$ y se encontró una correlación positiva en el contenido de fumonisinas en orina y aparición de cáncer de esófago.

2.4.2.2 Legislación para las toxinas del género *Fusarium*

En 1995, las fumonisinas estaban reglamentadas sólo en un país. Actualmente, existen reglamentos en seis países que permiten un contenido de fumonisinas desde 1000 hasta $3000 \mu\text{g kg}^{-1}$ de maíz. Aunque ha habido un incremento en 20 años, el número de países que reglamentan las fumonisinas es aún pequeño. Las autoridades que estudian actualmente los límites legales a fijar para las fumonisinas están determinando si es necesario limitar a la fumonisina B₁ y/o a la suma de las fumonisinas que aparecen naturalmente (Castella *et al.*, 1999; Commission Regulation, 2005).

La Comunidad Europea, para proteger la salud pública y evitar que entren en la cadena alimentaria maíz o productos a base de maíz con un grado inaceptable de contaminación por fumonisinas, a través del Reglamento CE nº 1126/2007 ha establecido un contenido máximo de $4000 \mu\text{g kg}^{-1}$ para maíz no destinado al consumo humano. Para maíz destinado al consumo humano directo el límite máximo permitido es $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$, con excepción de cereales para desayuno a base de maíz ($800 \mu\text{g kg}^{-1}$), alimentos infantiles y para lactantes ($200 \mu\text{g kg}^{-1}$), fomentando con esto el tomar las medidas necesarias durante las fases de cultivo, recolección y almacenamiento dentro de la cadena de producción. En México no existe una norma para la regulación de los límites de esta micotoxina.

2.5 Localización del hongo en el grano de maíz

La colonización del hongo micotoxigénico en el maíz ha sido poco estudiada. Smart *et al.*, 1990, inocularon con *Aspergillus flavus* mazorcas dañadas y pasados 28 días realizaron cortes de $1.5 \mu\text{m}$ de espesor en cada sección de la mazorca y los analizaron por microscopía de campo claro. El hongo se extendió a los 14 días de la inoculación, y a los 28 días, se encontró en pequeñas cantidades a lo largo de todos los tejidos superficiales de la mazorca, no penetró en la médula ni en las fibras lignificadas. Las hifas penetraron en el pericarpio sin llegar al endospermo. Esta teoría es reforzada por diversos autores (Marsh y Payne, 1984; Payne *et al.*, 1988; Windham and Williams, 1998). Sin embargo, otros autores (Brown *et al.*, 1995; Keller *et al.*, 1994; Lillehoj *et al.*, 1976) difieren, afirmando que existe una reducida penetración del hongo en el endospermo y que la alta concentración de aceite en el germen lo hace un medio rico para el crecimiento de *A. flavus*. En la Figura 2.5 se observa la estructura de un grano de maíz

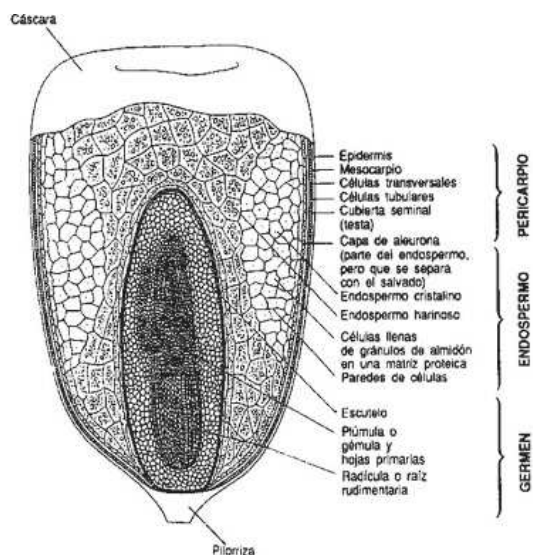


Figura 2. 5 Estructura de un grano de maíz

En estudios más recientes, Dolezal *et al.* (2013), inocularon *A. flavus* en endospermo y monitorearon su presencia mediante reacción en cadena polimerasa (PCR). *A. flavus* fue encontrado en tejidos de endospermo, el germen y el pedicelo de granos inoculados; la colonización era predominante en el endospermo, en el sitio donde fue realizada la inoculación. Con estos resultados no es posible confirmar si el hongo puede penetrar a través del pericarpio y colonizar el endospermo y el grano en su totalidad (Dolezal *et al.*, 2013).

Brera *et al.* (2006), estudiaron la distribución del contenido de aflatoxinas en diversas fracciones de maíz molido. El maíz fue separado por tamaño de partícula en germen, salvado, sémola grande y pequeña, harina y alimento para animales. Los porcentajes de mayor contaminación fueron para el germen, salvado y el alimento para animales.

2.6 Presencia de micotoxinas en maíz

A pesar de que México es el centro de origen y de diversidad del maíz, dicha diversidad no se ha analizado exhaustiva o consistentemente para identificar genotipos más tolerantes a la contaminación por aflatoxinas (Ortega, 2003). Es necesario el monitoreo de la calidad sanitaria, desde el uso de semillas libres de patógenos, durante cada una de las etapas del cultivo, hasta la cosecha, e incluso, durante la pos-cosecha y en el producto que va a ser consumido (Plasencia, 2004). Las pérdidas en la producción del grano se asocian con su manipulación durante la cosecha en el campo, almacenaje, transporte y procesamiento para el consumo humano o animal. El grano de maíz posee

una microbiota particular de bacterias, insectos y hongos que pueden causarle daños. Entre ellos, el género fúngico *Aspergillus* y *Fusarium*, que provocan gran variedad de efectos tóxicos en seres vivos expuestos al grano contaminado (Rodríguez-del-Bosque, 1996; Cotty y Jaime-García, 2007).

Para regular la cantidad de aflatoxinas presentes en el maíz y sus derivados, en México se han establecido dos normas que señalan los límites máximos en el contenido de aflatoxinas en cereales y subproductos de cereales como tortilla, tostadas, harinas y establecimientos donde se procesan (NOM-188-SSA1-2002 y NOM-187-SSA1/SCFI-2002), y no se han establecido límites para las toxinas del género *Fusarium*.

Las condiciones de producción de maíz en climas tropicales y subtropicales, particularmente en el noreste de México, favorecen las infecciones por hongos toxígenos. Por ello, es necesario la identificación e implementación de estrategias que reduzcan la contaminación en el grano. Entre ellas, destacan el uso de híbridos de maíz con resistencia a sequía, plagas, enfermedades y altos rendimientos de grano; manejo integrado de insectos y hongos mediante tratamiento químico, cultural o biológico, y la modificación del procesamiento del grano para consumo humano como la nixtamalización. Dichas medidas, individualmente o en conjunto, reducirán paulatinamente los daños causados por hongos potencialmente toxígenos en la planta de maíz y el consumidor final en México (Yuef *et al.*, 2013). Aunque los datos epidemiológicos son limitados, existen reportes de alto contenido de micotoxinas en México (Torres espinosa *et al.*, 1995; Martínez-Flores y García-Aguirre, 2003; García y Heredia, 2006).

2.6.1 Aflatoxinas

Martínez-Flores y García-Aguirre, (2003), analizaron el contenido de aflatoxinas en el estado de Tamaulipas, uno de los mayores productores de maíz en México, encontrando en prácticamente toda la cosecha y en valores por arriba de los $100 \mu\text{g kg}^{-1}$. Torres Espinosa *et al.*, (1995) realizaron un estudio en la ciudad de Monterrey, de maíz para consumo humano, revelando que el 89% de las muestras analizadas estaban contaminadas con aflatoxinas (B_1 y G_1), y de éstas, el 59% estaba en niveles superiores a los límites legales mexicanos. García y Heredia, (2006) documentaron la incidencia de aflatoxina en 12 Estados de la República Mexicana, Ciudad de México, Sonora, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa, Nayarit, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Oaxaca y Chiapas, encontrando concentraciones mayores $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ en prácticamente toda la cosecha.

2.6.2 Fumonisinias

Entre los estudios que demuestran la presencia de fumonisinias en maíz destaca el realizado por Robledo *et al.* (2001), quienes analizaron maíz forrajero en 20 ciudades de Nayarit. Mediante

cromatografía líquida de alta resolución detectaron fumonisina B₁ en todas las muestras, en un intervalo de concentración de 269 µg kg⁻¹ hasta 6627 µg kg⁻¹, con una media de 2541 µg kg⁻¹. Yun *et al.*, (2008), realizaron un estudio en 75 mujeres mexicanas consumidoras de tortillas, mediante un cuestionario de frecuencia de consumo las clasificaron en tres grupos según su nivel de ingesta de tortillas, y al analizar el contenido de fumonisinas en orina se observó que el grupo de mayor consumo presentó un contenido de fumonisinas tres veces mayor al de bajo consumo.

2.7 La tortilla en México

En México se consumen 28 millones de toneladas de maíz al año, de las cuales 7 millones son importadas, principalmente de Estados Unidos, para satisfacer las necesidades de la población. El 40 % del maíz es utilizado entre el sector ganadero (28 %), la industria de almidón (8%), pérdidas (3 %) y como semillas para siembra (1 %), y el 60 % del maíz es usado para el consumo humano, el cual es transformado en diversos productos como atole, tamales, chilaquiles, antojitos, esquites y principalmente tortillas de maíz (SE, 2012).

La tortilla es un producto mexicano muy versátil producidas en diferentes países como Inglaterra, Holanda, Rusia, China, Malasia, Australia, destacando Estados Unidos donde la empresa Mission Food, que cuenta con 14 plantas, produce 52 millones de tortillas por día. Según cifras del Consejo regulatorio de la masa y la tortilla, en 2012, fueron producidos en México entre 7.3 y 9.4 millones de toneladas de tortilla; Aunque la tortilla de maíz es consumida en todo el territorio nacional, siete estados (Estado de México, Ciudad de México, Jalisco, Veracruz, Michoacán, Guanajuato y Puebla) concentran el 53 % del consumo de tortilla (CRMYT, 2013).

En México, los productos de maíz son consumidos por todos los sectores de la población, su bajo costo (\$ 12.00 por kilogramo) lo hace un producto de consumo diario para los sectores de menor ingreso económico. Existen diferentes publicaciones que estiman el consumo nacional de tortilla. La Encuesta Nacional de Ingreso y Gasto en Hogares (ENIGH) en 2012, realizó una encuesta en 50,528 hogares a lo largo del país, preguntando el gasto semanal asignado a la compra de tortilla de maíz. Debido a factores como la variabilidad de los precios dependiendo del lugar de compra y al aumento constante de precios registrado en los últimos años, es difícil estimar la ingesta diaria por persona, de

la misma manera, impide caracterizar el consumo de acuerdo a la edad, género tampoco distinguir a un miembro no consumidor en la familia por lo cual, no se puede hablar de un dato preciso para caracterizar el patrón de consumo de una persona, familia o población.

En la literatura constantemente se cita un consumo de tortilla de 325 g d⁻¹ sin especificar la fuente; además, no está identificado cómo se realizó el estudio, y el mismo consumo es citado en publicaciones desde 1983. Según el sistema nacional de información e integración de mercados (SNIIM), en 2000 el costo de un kg de tortilla en la ciudad de Veracruz era de \$ 4.60 en agosto de 2016 el costo por la misma cantidad es de \$ 13.33, dicho aumento de precios podría sugerir un cambio en el consumo. Además, el crecimiento de las poblaciones urbanas, el aumento de productos a base de trigo y comida industrializada, y el cambio de los hábitos de consumo a lo largo de 33 años, son otros factores que implicarían cambios en el patrón de consumo de la población (CEDRSSA, 2014).

Según el CIMMYT, (2010), el consumo *per capita* anual de tortillas en grupos poblacionales de menor ingreso económico llega a ser mayor a 120 kg. El Consejo Nacional de Evaluación de la Política y Desarrollo Social (CONEVAL, 2010) basado en datos de la encuesta nacional de ingreso y gasto en hogares (INEGI-ENIGH, 2006) estimó la ingesta de tortillas en la población mexicana en 159.1 g d⁻¹ para la población urbana y 217.9 g d⁻¹ para la población rural. Además de los problemas anteriormente mencionados, en la encuesta de ingresos y gastos en hogares no se realizó una separación entre el consumo de hombres y mujeres y se asume que el consumo es similar en todas las poblaciones rurales y urbanas del país.

2.8 Tecnología de la nixtamalización

El proceso de conversión del maíz como se practica en los países donde se consume tortilla ha sido descrito y revisado por diversos autores (Bressani, 1990; Serna-Saldivar *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2009; Rooney y Serna-Saldivar, 2016). El maíz entero es agregado en una dilución 1:1 en peso, de una solución entre 0.6 y 2 % de Ca(OH)₂, es calentado y en la mayoría de los casos llevado a ebullición durante 30 a 70 minutos con agitación moderada, dejando reposar entre 8 y 16 horas. Pasado el tiempo de reposo, el agua es descartada y el maíz se lava una o dos veces removiendo la cáscara, eliminando el exceso de Ca(OH)₂ y las impurezas que el grano pudiera tener. En un proceso exitoso, se debe poder pelar el grano de maíz fácilmente entre los dedos al frotarlo. El agua de cocción y remojo se conoce como “agua de nixtamal” o “nejayote”. Al maíz cocido se le llama “nixtamal”. Las principales variables en el proceso son la concentración de Ca(OH)₂ utilizada, el tiempo y la temperatura de cocción. El molido del maíz nixtamalizado da como resultado la masa, la cual,

según el proceso al que sea sometida, podrá transformarse en diversos productos de los cuales la tortilla es el principal. El proceso de nixtamalización se muestra en la Figura 2.6.

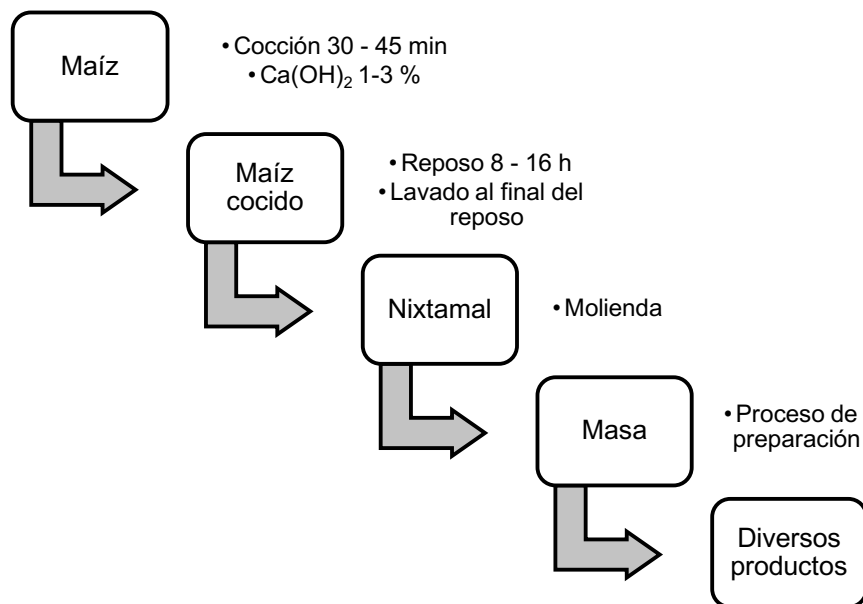


Figura 2. 6 Transformación en el maíz inducida por el proceso de nixtamalización

La nixtamalización induce cambios en la estructura del grano, en su composición química, en sus propiedades de funcionalidad y en su valor nutritivo. Estos cambios se deben principalmente a la alta solubilidad en soluciones alcalinas de los componentes de la membrana celular de los granos del maíz, entre los cuales se incluyen hemicelulosa y pectina; como consecuencia, los granos se suavizan y sus pericarpios (cáscaras) se aflojan. El grano se hidrata y absorbe calcio a lo largo de todo el proceso. Los almidones se disuelven y gelatinizan, algunos almidones se dispersan en el líquido. La cocción produce cambios en la proteína principal del maíz, lo que hace a las proteínas y nutrientes del endospermo y núcleo más asimilables para el cuerpo humano, así como también de compuestos químicos, inducidos por el agua, pH alcalino de cocción, el tiempo de cocción y remojo y las temperaturas aplicadas en las diferentes fases del procesamiento (Fernández-Muñoz *et al.*, 2004).

Los cambios en funcionalidad consisten en la pérdida de compuestos orgánicos que conforman la fibra, la gelatinización parcial de los almidones, la desnaturalización de las proteínas y cambios en el valor nutritivo. Otros efectos importantes son los de control de la actividad microbiológica y los de aroma, sabor y color del producto (Gutiérrez *et al.*, 2007; Gutiérrez-Cortez *et al.*, 2010).

2.9 Efecto de la nixtamalización sobre el contenido de Micotoxinas

La tortilla se obtiene siguiendo un proceso tradicional llamado nixtamalización, cuya alcalinidad parece destruir en gran parte las aflatoxinas presentes en el maíz. Se ha demostrado que la nixtamalización tradicional es capaz de destruir entre el 85 y 95 % de la aflatoxina presente en el maíz (Anguiano-Ruvalcaba *et al.*, 2005; Elias-Orozco *et al.*, 2002). En el caso de la nixtamalización ecológica, la disminución va del 60 al 78 % dependiendo de la contaminación inicial (Méndez-Albores *et al.*, 2004).

La primera etapa en la degradación de las micotoxinas durante la nixtamalización probablemente sea debido a que el medio básico induce a abrirse al anillo lactónico de la aflatoxina, obteniéndose una sal soluble en agua y una descarboxilación (Coomes *et al.*, 1966). Se ha observado que la fluorescencia de la aflatoxina puede atribuirse a la fracción cumárica que se desprende en los tratamientos alcalinos. Algunos autores, han cuestionado la eficacia de la nixtamalización para inactivar las aflatoxinas, al sugerir que el tratamiento térmico no es lo suficientemente fuerte y que los anillos de lactona que se abren durante el tratamiento alcalino para inactivar las aflatoxinas podrían cerrarse cuando la tortilla se acidifica en el estómago y revertir a su forma original (Price y Jorgensen, 1985; Torres *et al.*, 2001; Méndez-Albores *et al.*, 2004)

Pérez-Flores *et al.*, (2011) estudiaron la degradación de aflatoxinas en un proceso de nixtamalización modificado evaluando su reconversión en medio ácido. Se agregó Ca(OH)_2 en una concentración de 5 % con respecto al maíz, la cocción se llevó a cabo durante 5.5 min, utilizando un microondas con una potencia de 1650 W y una frecuencia de operación fue de 2450 Mhz. Pasado el tratamiento térmico se dejó reposar por 3 h a 22 °C. El porcentaje de reducción en masa varió de 36 a 82 % dependiendo del contenido inicial de aflatoxinas con una reconversión del 3 al 7 % para masa nixtamalizada y una reducción del 68 al 84 % con una reconversión del 1 al 3 % de aflatoxina en tortilla de maíz.

Méndez-Albores *et al.*, (2004) inocularon maíz con *Aspergillus flavus* induciendo su contaminación con aflatoxinas y estudiaron la degradación de aflatoxinas en un proceso de nixtamalización. Las condiciones de nixtamalización fueron 1 % de Ca(OH)_2 y a una temperatura de proceso de 85 °C por 35 min. El contenido inicial de aflatoxina fue de 678 $\mu\text{g kg}^{-1}$ el cual disminuyó a 95 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en masa (disminución del 86 %) y a 46.3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en tortilla (disminución 93 %). Al ser acidificado a un pH de 3, hubo una reconversión resultando un contenido de 149 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para masa y 62 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para tortilla. Un estudio similar pero con resultado opuesto fue realizado por Anguiano *et al.*, (2005) quienes utilizaron dos lotes de maíz naturalmente contaminado con aflatoxina para estudiar su inactivación durante el proceso de nixtamalización tradicional. El contenido de aflatoxinas disminuyó

de $699 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $26 \mu\text{g kg}^{-1}$ (96 % de reducción) para el lote uno y de $35 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $1.3 \mu\text{g kg}^{-1}$ (96 % de reducción). La masa nixtamalizada fue acidificada con HCL a un pH de 1 y 3.4 sin incrementar el contenido de aflatoxina ni aflatoxicol. Debido a esta diversidad de opiniones en cuanto a reconversión de la molécula de aflatoxina en medio ácido, no ha podido ser concluyente.

En el caso de las fumonisinas, Meredith *et al.*, (1999) nixtamalizaron maíz naturalmente contaminado con fumonisinas, en concentraciones de $8790 \mu\text{g kg}^{-1}$ para FB_1 y $1970 \mu\text{g kg}^{-1}$ para FB_2 logrando una disminución del 94 % y 90 % respectivamente. Resultados similares son reportados por De La Campa *et al.*, (2004), ; Dombrink-Kurtzman, (2000); Palencia *et al.*, (2003). Aunque la nixtamalización pareciera ser un tratamiento efectivo para la eliminar las fumonisinas, el la cantidad residual puede ser importante debido el alto contenido de micotoxinas presentes en maíz de México (Robledo *et al.*, 2001).

2.10 Micotoxinas en tortillas de maíz

Rosiles-Martínez (1979), analizó el contenido de aflatoxinas en tortillas de la Ciudad de México, en distintas épocas del año, el 20 % de las muestras colectadas en primavera de 1978 e invierno de 1977- 1978 contenían aflatoxinas, detectando concentraciones de aflatoxinas B_1 entre 50 y $200 \mu\text{g kg}^{-1}$, de igual forma afirman que la nixtamalización reducen en 75 % del contenido de aflatoxinas y que concentraciones de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ de hasta el 10 % no resulta más eficaz que una concentración del 2 % para disminuir el contenido de aflatoxinas debido a que la solubilidad del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (1.85 g L^{-1}) disminuye cuando el agua es calentada (0.77 g L^{-1}).

Dombrink-Kurtzman y Dvorak (1999), realizaron un estudio para evaluar el contenido de fumonisinas en productos de maíz de México y Estados Unidos. En México se obtuvieron: dos muestras de masa, cuatro muestras de tortillas comercialmente preparadas y tres muestras de tortillas de tortillerías locales. En Estados Unidos: cuatro muestras de masa con harina preparada en México y dos muestras más de tortilla de harina de maíz producida en Venezuela

En la Tabla 2.2 se presenta la comparación en contenido de fumonisinas en productos de maíz de Estados Unidos y México. Las mayores concentraciones se encontraron en muestras analizadas de México.

Tabla 2. 2 Contenido de fumonisinas en productos de maíz comprados en diferentes regiones de México y de Estados Unidos

Muestra	Lugar	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Harina de maíz nixtamalizado	Nuevo León, México	FB ₁ 1800 \pm 160 FB ₂ 1380 \pm 210
	Jalisco, México	FB ₁ 590 \pm 290 FB ₂ 110 \pm 20
Tortillas	Coahuila, México	FB ₁ 1070 \pm 160 FB ₂ 180 \pm 160
	Torreón, México	FB ₁ 970 \pm 330 FB ₂ 50 \pm 50
	Puebla, México	FB ₁ 540 \pm 30 FB ₂ 110 \pm 10
	Chihuahua, México	FB ₁ 210 \pm 10 FB ₂ 30 \pm 30
Masa de harina de maíz	Estados Unidos	FB ₁ 40 \pm 10 FB ₂ N.D.
		FB ₁ 70 \pm 60 FB ₂ N.D.
Tortilla de maíz hecha con mezcla (maíz / harina de maíz nixtamalizado)	Estados Unidos	FB ₁ 380 \pm 60 FB ₂ 60 \pm 10
Harina de maíz nixtamalizado	Estados Unidos	FB ₁ 1290 \pm 180 FB ₂ 170 \pm 0

El contenido de FB₁ presente en muestras de masa y tortilla producida en México varió desde 210 $\mu\text{g kg}^{-1}$ hasta 1800 $\mu\text{g kg}^{-1}$ con una media de 790 $\mu\text{g kg}^{-1}$, siendo mayor que el contenido de FB₁ detectado en Estados Unidos, que iba de 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ a 380 $\mu\text{g kg}^{-1}$, con una media de 160 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Castillo-Ureta *et al.*, (2011), evaluaron la presencia de aflatoxinas en 396 muestras de la Ciudad de México. El muestreo se llevó a cabo en cuatro días entre 2006 y 2007, analizaron seis tortillerías en cada una de las delegaciones, tres provenientes de supermercados y tres provenientes de tortillería convencional, se encontró contaminación por aflatoxinas en el 17 % de las muestras (3-385 $\mu\text{g kg}^{-1}$), de éste, el 13% contenía niveles por arriba de 12 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de aflatoxina para tortilla establecido por la norma Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002. No encontraron diferencia estadística en el contenido de aflatoxinas en tortillas de maíz de los distintos distritos ni en los dos periodos de muestreo. El contenido de aflatoxinas en supermercados fue mayor al detectado en tortillerías. Este trabajo evidencia la alta incidencia de aflatoxinas en tortillas de maíz, y evidencia la necesidad de una evaluación de la exposición al riesgo por consumo de estas micotoxinas.

2.11 Antecedentes de análisis de riesgo por el consumo de micotoxinas en productos de maíz

Bittencourt *et al.*, (2005), colectaron 60 muestras de harina de maíz en mercados locales de Sao Paulo, escogiéndolo las marcas más populares. Se cuantificó el contenido de aflatoxinas y fumonisinas por HPLC acoplado a un detector de fluorescencia. El límite de detección de aflatoxinas fue de $2.0 \mu\text{g kg}^{-1}$, y todas las muestras se encontraron por debajo de este valor. El 100 % de las muestras presentaron niveles de fumonisinas en niveles desde 1.1 a 15 mg kg^{-1} para FB1 y 0.2 a 3.9 mg/kg para FB2, con una contaminación media de $5.2 \pm 3.7 \text{ mg kg}^{-1}$ y $1.0 \pm 0.9 \text{ mg kg}^{-1}$, para FB1 y FB2 respectivamente. El consumo de maíz fue obtenido de lo reportado por el Instituto Brasileño de Geografía y Estadística de 2 a 12 g d^{-1} en poblaciones urbanas y de 11 a 39 g d^{-1} en poblaciones rurales. Considerando la media de contaminación por fumonisinas, el consumo estimado de maíz en Brasil se estimó determinísticamente el peor escenario probable (utilizando el valor máximo de consumo de cada población) para la ingesta diaria de fumonisinas en $0.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ de pc d^{-1} para la población urbana y $2.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ de pc d^{-1} para la población rural, siendo esta última ligeramente mayor a la ingesta diaria aceptada (ADI) de $2 \mu\text{g}$ por kilogramo de peso corporal por día.

Martins *et al.* (2012), colectaron 100 muestras de productos derivados de maíz (44 de harina de maíz, 28 de sémola de maíz, 17 de maíz palomero, y 11 de hojuelas de maíz). La colección de muestras se realizó en 20 municipios de la ciudad de Paraná, Brasil, no se especifica el método de muestreo el cual se llevó a cabo entre febrero 2007 y julio 2010. El porcentaje de muestras con fumonisinas B₁ y B₂ fue de 82 y 51 % respectivamente, con concentraciones de 126 a $4348 \mu\text{g kg}^{-1}$ (FB₁ + FB₂). Utilizaron 60 kg como la masa corporal de una persona (tanto para hombre como para mujer) y el consumo diario fue obtenido de lo reportado por el Instituto Brasileño de Geografía y Estadística en 2011 de 14.7 g maíz por día. Se estimó una ingesta diaria de fumonisinas de $0.121 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$ y un peor escenario (utilizando como el percentil 90 del consumo de productos de maíz) de $0.256 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ pc / d}^{-1}$, datos menores a la ADI establecida por el comité de expertos FAO/OMS.

Zhao *et al.* (2013), realizaron un estudio para estimar la ingesta diaria de la aflatoxina B₁ por consumo de especias chinas. Recolectaron aleatoriamente 480 muestras: pimiento (80), chile (80), fresno espinoso (79), canela (80), anís (80), hinojo (40), curry en polvo (11), comino (29), y jengibre (1) en 8 ciudades de China entre abril y julio de 2009, La determinación de aflatoxinas se realizó por HPLC-FD 11 % de las muestras estaban contaminadas en concentraciones de hasta $27.52 \mu\text{g kg}^{-1}$. Construyeron una PDF triangular, utilizando el límite de detección como punto inferior, la moda como el punto máximo y el valor de mayor contaminación como el punto máximo, asumieron un peso de 60 kg para toda la población. Los datos de consumo se obtuvieron de Pradeep *et al.*, (1993). Dependiendo del escenario la IDE fue de $0.25 - 2 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc/ d}^{-1}$, por lo cual se puede asumir que el consumo de especias chinas estaría relacionado con efectos negativos a la salud, principalmente los relacionados con hepatitis B.

Sugita-Konishi *et al.* (2010), analizaron 800 muestras, provenientes de 24 tipos de alimentos. Las muestras fueron obtenidas de cosechas domésticas, donadas por los ministerios de agricultura y pesca o compradas en tiendas locales en ciudades de Tokio, Nagoya y Kobe, en Japón. Se encontraron niveles de contaminación por aflatoxinas desde 0.21 hasta 28 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Los datos de consumo fueron obtenidos de la encuesta nacional de salud y nutrición en 2005, que encuestó a 17827 personas en dos días. Para construir una PDF del consumo de cada producto analizado (ya que el consumo medio de la población no es suficiente para caracterizar el consumo de una población mediante una distribución de probabilidad) se utilizó la clasificación del consumo por edades (1-6 años, 7-14 años, 15-19 años y más de 20 años) y se agruparon categorías similares (por ejemplo la categoría chocolate incluía chocolate con leche sólido, chocolate con leche líquido, cocoa y chocolate puro). La PDF del contenido de aflatoxinas se obtuvo con los asignando cero a los valores que estuvieron por debajo del límite de detección y se ajustó a una función log normal. La ingesta diaria se estimó utilizando el método Monte Carlo con 10,000 iteraciones. La ingesta diaria estimada (EDI) alcanzó valores cuantificables hasta el percentil 90, siendo el grupo de 1 a 6 años el más vulnerable con una exposición de $0.005 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$.

2.12 Síntesis de antecedentes

El maíz es el producto agrícola más importante en México, según datos de la FAO su producción en 2013 fue de 22,663,953 toneladas, de las cuales Veracruz produjo 973,458 toneladas (FAOSTAT, 2016). Aún existiendo dos temporadas de cosecha de maíz al año, Primavera-Verano y Otoño-Invierno, su consumo es tal que, aproximadamente 6 millones de toneladas son importadas de manera anual principalmente desde los Estados Unidos (CIMMYT, 2010; FAOSTAT, 2016). El 60 % del maíz utilizado para el consumo humano es destinado para la elaboración de productos derivados del maíz (Bressani, 1990).

Debido a malas condiciones de plantación, cosecha, transporte secado o almacenamiento que se le da al maíz, se crea el medio idóneo para el crecimiento de hongos productores de micotoxinas (Bean y Echandi 1989; Lucas 2011). Las micotoxinas son productos del metabolismo secundario de los hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* y *Claviceps*. Existen más de 300 tipos de micotoxinas, las aflatoxinas y fumonisinas son las que se encuentran con mayor frecuencia como contaminantes naturales en los alimentos. Se pueden producir durante la cosecha, traslado o almacenamiento, si se presentan las condiciones óptimas para el desarrollo de los hongos que las originan. Las aflatoxinas han sido clasificadas por la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer como un agente cancerígeno (aflatoxinas) y posible cancerígeno (fumonisina) para humanos (IARC, 1993, 2003; Codex *alimentarius*, 2003).

Para controlar el contenido de maíz presente en maíz y sus productos derivados en México, la NOM-188-SSA1-2002 establece que las aflatoxinas en cereales no deben exceder un nivel de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ y la NOM-187-SSA1-2002 establece un máximo de $12 \mu\text{g kg}^{-1}$ para tortilla; sin embargo, se han reportado concentraciones mayores a $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ de aflatoxinas y de $5500 \mu\text{g kg}^{-1}$ para maíz en México.

Aunque se ha documentado que el proceso de nixtamalización destruye el 90% de las fumonisinas (Palencia, 2003; Torres-Sánchez y López-Carrillo, 2010) y entre el 80 y 90% de las aflatoxinas (Anguiano *et al.*, 2005; Dombrink-Kurtzman, 1999; Mendez *et al.*, 2002; Orozco *et al.*, 2002), la cantidad residual puede ser importante. Se han reportado concentraciones residuales superiores a $100 \mu\text{g/kg}$ de aflatoxinas en tortilla de maíz nixtamalizado, y de $690 \mu\text{g/kg}$ para tortilla de harina de maíz. (García y Heredia, 2006; Guzmán de Peña, 1989; Robledo *et al.*, 2001; Torres-Esponosa *et al.*, 1995). Sin embargo; se ha estudiado poco el efecto de las variables del proceso en la degradación de micotoxinas durante la nixtamalización.

Debido al alto consumo de tortillas de maíz en México, a los reportes de altas concentraciones iniciales de micotoxinas en maíz, y a altos contenidos residuales de micotoxinas después de la nixtamalización y elaboración de tortillas, la población de la Ciudad de Veracruz podría estar en riesgo por consumo de aflatoxinas y fumonisinas. Conociendo la problemática y habiendo pocos antecedentes de trabajos realizados sobre un producto de la canasta básica, como lo es la tortilla en México, se propone establecer una metodología para evaluar probabilísticamente el riesgo a la salud debido a la exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de tortillas de maíz.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue establecer una metodología para evaluar probabilísticamente el riesgo a la exposición a aflatoxinas y fumonisinas por consumo de tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la temporada sobre la función de densidad de probabilidad (PDF) del contenido de micotoxinas en tortilla
- Evaluar la PDF del patrón de consumo de tortilla y la PDF del peso corporal de los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz.
- Evaluar el riesgo de ingerir micotoxinas para el consumidor de tortillas en la ciudad de Veracruz.
- Evaluar el efecto de la concentración de Ca(OH)_2 y tiempo de cocción sobre la concentración de micotoxinas durante la nixtamalización.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

En esta sección se describe la metodología y materia prima utilizada para cumplir con el objetivo general, y los cuatro objetivos específicos.

4.1 Evaluación de riesgo

En esta sección se describe el material y métodos utilizados para evaluar probabilísticamente el riesgo por exposición a micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) por consumo de tortilla de maíz.

4.1.1 Materia prima

Se realizaron tres muestreos durante los meses: octubre 2013, octubre 2014 y febrero 2015. En cada muestreo se colectaron 2 kg de tortilla. Cada lote fue almacenado a -25 °C hasta su pretratamiento.

4.1.2 Aleatoriedad del muestreo

Con el fin de obtener un muestreo aleatorio y representativo de las tortillerías de maíz de la ciudad de Veracruz, se programó en código MATLAB una secuencia para generar números aleatorios y ser representados en coordenadas cartesianas en un mapa de la ciudad de Veracruz.

$$X = \text{aleatorio}(x_1, x_2)$$

$$Y = \text{aleatorio}(y_1, y_2)$$

4.1.3 Localización de las tortillerías

Se generaron coordenadas aleatorias entre el área delimitada de un mapa de la ciudad de Veracruz, se identificó *in situ* cada punto seleccionado, se ubicó la tortillería más cercana, y se registró la dirección. Adicionalmente se clasificó cada tortillería de acuerdo al tipo de materia prima que utilizan para fabricar su producto, ya sea maíz para ser nixtamalizado, harina de maíz nixtamalizado.

4.1.4 Encuestas de consumo alimentario

Debido a la falta de disponibilidad de datos de la masa corporal y del consumo de tortillas de los habitantes de la ciudad de Veracruz, necesarios para realizar el análisis de riesgo, se decidió efectuar una encuesta de consumo alimentario.

La selección de las personas se realizó utilizando la metodología de la sección 4.1.2. con el fin de obtener un muestreo aleatorio y representativo de la población de la ciudad de Veracruz, se generaron 300 coordenadas geográficas diferentes para cada tipo de cuestionario, las coordenadas fueron localizadas *in situ* y una casa fue seleccionada para la aplicación de la encuesta.

La persona quien recibía al entrevistador era informada del propósito de la encuesta e invitada a participar con su familia en uno de los dos tipos de cuestionario de consumo alimentario. Si la familia decidía no participar, el entrevistador seleccionaba otra casa en la misma área, hasta encontrar alguna familia que estuviera interesada en participar. Cuando una familia aceptaba contestar, una encuesta era otorgada a cada integrante de la familia. Los participantes fueron personas mayores de 5 años, cada persona contestó su propia encuesta, en el caso de niños pequeños, podían ser ayudados por sus padres. Cada miembro de la familia contestaba el mismo tipo de encuesta ya sea diario de consumo de tortilla o cuestionario de frecuencia de productos derivados de maíz. Los cuestionarios de consumo alimentario se muestran en el Anexo A.

4.1.4.1 Diario de consumo de tortillas

Debido a que las tortillas son un alimento consumido frecuentemente por gran parte de la población, se optó por realizar una encuesta del tipo “Diario de Consumo Alimentario”. El diario de consumo de tortillas constaba de dos partes, la primera, era contestada únicamente por el jefe de familia, recopilaba información acerca de los hábitos de compra de tortillas de maíz, Se incluyeron preguntas como frecuencia, cantidad, lugar de compra y almacenamiento de las tortillas de maíz, además de preguntas para caracterizar a la familia como: ¿A que se dedica el jefe de familia? ¿Cuánto dinero mensual percibe el jefe familia? y ¿Cuál es el nivel de estudios del jefe de familia?

En la segunda parte, cada miembro de la familia registraba su nombre, edad, género, peso e inmediatamente después de desayunar, comer y cenar, anotaban el número de tortillas consumidas durante tres días. Después de ese tiempo, las encuestas fueron recolectadas.

4.1.4.2 Frecuencia de consumo de productos derivados de maíz

Además de tortillas, existen otros productos derivados del maíz que son consumidos con menor frecuencia, siendo tacos, tostadas, tamales, antojitos, atole, esquites, elotes y chilaquiles los más comunes. Cuando los productos bajo estudio no son consumidos todos los días, se realizó un cuestionario del tipo “frecuencia de consumo” que es la mejor opción para conocer su ingesta diaria.

Después de seleccionar la casa a encuestar con la metodología anteriormente descrita, se invitó a los integrantes de la familia que estuvieran presentes a participar en una encuesta de consumo, la cual era contestada en el momento de la visita. De la misma manera que en el diario de consumo de tortillas, en la primera parte del cuestionario se realizaron preguntas para caracterizar a la familia como: ¿A que se dedica el jefe de familia? ¿Cuánto dinero mensual percibe el jefe familia? Y ¿Cuál es el nivel de estudios del jefe de familia? En la segunda parte, cada miembro de la familia registraba su nombre, edad, género, peso, y de cada alimento estudiado, la frecuencia de consumo (semanal o mensual), el número de porciones consumidas y el tamaño de la porción (chica mediana o grande). Para unificar criterios en el tamaño de porción, se presentó un cuaderno fotográfico en el cual se mostraron tres tamaños a elegir de cada uno de los productos derivados del maíz.

4.1.5 Acondicionamiento de la tortilla de maíz

Con el fin de ser analizado, cada lote de tortilla de maíz fue secado a 60 °C durante 2 h hasta alcanzar una humedad de 6 % en un secador de bandejas marca APEX serie A39854-12 a 60 °C. Cada muestra fue deshidratada por separado, realizando una limpieza en el equipo de secado entre muestras para evitar contaminación cruzada. Una vez alcanzada la humedad deseada, se redujo el tamaño de partícula en un molino MAZAL tipo 15-190X con un diámetro de tamiz de 0.5 mm. Después de la molienda, se homogeneizó la muestra durante 15 minutos en un homogeneizador de polvos (equipo READCO modelo Optimate), la velocidad de la vasija fue de 30 rpm y 200 rpm para las aspas. El polvo resultante, 200 g de cada lote, fue almacenado en bolsas trilaminadas a -40 °C hasta su análisis.

4.1.6 Determinación de micotoxinas por cromatografía líquida de alta presión

La determinación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) de esta sección, se realizó por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) marca Prominence, modelo CBM-20A acoplado a un detector de fluorescencia marca Prominence, modelo RF-202, basado en la Normatividad 14123: 2003 del Comité Europeo para aflatoxinas y UNE-EN 13585: 2002 para fumonisinas.

4.1.6.1 Metodología para el análisis de aflatoxinas por HPLC

Extracción

Se pesaron 25 g de muestra homogeneizada, 2 g de NaCl y se agregaron 50 mL de metanol 80 %, mezclándose en una licuadora (WARING COMMERCIAL) de 150 mL de capacidad durante 2 min en velocidad baja. La mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante es recuperado.

Dilución

La dilución se realizó mezclando 2 mL de sobrenadante y 14 mL de solución amortiguadora salina de fosfatos (PBS) 1X

Purificación

Se montó la cámara de vacío, adaptador y jeringas para realizar la purificación de las aflatoxinas, y se removió el líquido contenido en la columna de purificación (AFLAPREP de R-BIOPHARM), sin dejarse secar por completo, se enjuagó la columna con 10 mL de PBS 1X a una velocidad de 5 mL min⁻¹, nuevamente sin dejar secar por completo, el centrifugado diluido (16 mL) se pasó por la columna a una velocidad de 2 mL/min, sin dejarla secar por completo, pasada la muestra, la columna se lavó con 20 mL de solución amortiguadora PBS 1X a una velocidad de 5 mL/min, esta vez se retiró todo el líquido contenido en la columna y se dejó pasar aire por la columna para eliminar el exceso de PBS 1X. Se colocó un vial para eluir y se pasó 1 mL de metanol realizando 2 retrolavados, nuevamente se pasó 1 mL de metanol y se realizaron 2 retrolavados. El metanol se evaporó a 40 °C con flujo de nitrógeno, por último se reconstituyó en 1 mL de fase móvil antes de ser inyectado en HPLC con las condiciones que se muestran en la Tabla 4.1. Se utilizó una celda electroquímica para derivatización post columna Kobra Cell (Coring System Diagnostics GmbH, Gernsheim, Germany) para mejorar la fluorescencia de las aflatoxinas B₁ y G₁, se agregó, por cada litro de fase móvil una mezcla de agua y metanol (55:45) con 119 mg de KBr 0.001 M y 350 µL de ácido nítrico 4 M.

Tabla 4. 1 Condiciones de HPLC para la determinación de aflatoxinas

Fase móvil	Agua/Metanol (55/45) + 119 mg KBr+ 350 µL ácido níttrico
Flujo	0.8 mL min ⁻¹
Detector	Fluorescencia
Columna	C ₁₈ fase reversa ODS de 1 a 5 µm
Temperatura	40 °C
Volumen de inyección	100 µL
Excitación / Emisión	362 nm / 425 nm

Determinación de una solución base de AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ Curva de 1 ng mL⁻¹

Para realizar la curva de calibración de aflatoxinas se prepararon las siguientes soluciones y estándares:

Solución de Aflatoxinas Totales (1000 ng/mL)

Se colocó 0.4 mL de estándar Aflatoxina (TSL 108) de R-Biopharm con una concentración de 5 µg/mL (2µg/mL AFB₁, 2 µg/mL AFG₁, 0.5 µg/mL de AFB₂, 0.5 µg/mL de AFG₂) en un vial ámbar de 4 mL mezclando con 1.6 mL de acetonitrilo glacial, se almacenó a 4 °C.

Solución madre (20 ng/mL) de AFT

Se colocó 2.5 mL de metanol 100 % en un vial ámbar, se retiraron 100 µL de metanol 100 % mezclando con 100 µL de solución de Aflatoxinas 1000 ng/mL y 2.5 mL de agua, obteniendo una solución con una concentración de 20 ng/mL de Aflatoxinas, se homogeneizó y almacenó a 4 °C por una semana.

Solución metanol 50 %

Se mezclaron 4 mL de agua millipore con 4 mL de metanol 100 %, y se almacenó a 20 °C

Preparación de Estándares

Estándar 1: Se mezcló 1 mL de la solución madre (20 ng mL^{-1}) con 1 mL de metanol 50 %, en un vial ámbar se homogeneizó y almacenó a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Estándar 2: Se mezcló 1 mL del estándar 1 con 1 mL de metanol 50 %, en un vial ámbar se homogeneizó y almacenó a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Estándar 3: Se mezcló 1 mL del estándar 2 con 1 mL de metanol 50 %, en un vial ámbar se homogeneizó y almacenó a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Estándar 4: Se mezcló 1 mL del estándar 3 con 1 mL de metanol 50 %, en un vial ámbar se homogeneizó y almacenó a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Estándar 5: Se mezcló 1 mL del estándar 4 con 1 mL de metanol 50 %, en un vial ámbar se homogeneizó y almacenó a $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Las concentraciones de los estándares se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4. 2 Concentración de los estándares de aflatoxinas utilizados para la preparación de la curva de calibración

Estándar	AFB ₁ (ng mL ⁻¹)	AFB ₂ (ng mL ⁻¹)	AFG ₁ (ng mL ⁻¹)	AFG ₂ (ng mL ⁻¹)
1	4	1	4	1
2	2	0.5	2	0.5
3	1	0.25	1	0.25
4	0.5	1.125	0.5	0.125
5	0.25	0.625	0.25	0.0625

4.1.6.2 Metodología para el análisis de fumonisinas por HPLC

Se pesaron 25 g de muestra homogeneizada, 2 g de NaCl y se agregaron 50 mL de metanol 80 %, mezclándose en una licuadora (WARING COMMERCIAL) de 150 mL de capacidad durante 2 minutos en velocidad baja, la mezcla se vació en un tubo para centrifuga y centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos, se recuperó el sobrenadante.

Dilución

La dilución se realizó mezclando 10 mL del centrifugado con 40 mL de solución amortiguadora PBS.

Purificación

Se preparó la cámara de vacío: adaptador y jeringa para realizar la purificación, el líquido contenido en la columna de purificación (FUMONIPREP de R-BIOPHARM) se removió, sin dejar secar por completo, la columna se enjuagó con 10 mL de PBS 1X a una velocidad de 5 mL min^{-1} , nuevamente sin dejar secar por completo la columna, 10 mL del centrifugado diluido se pasó por la columna a una velocidad de 2 mL min^{-1} , sin dejarla secar por completo, pasada la muestra, la columna se lavó con 20 mL PBS 1X a una velocidad de 5 mL/min , esta vez, se retiró el líquido contenido en la columna, y dejó pasar aire por la columna para eliminar el exceso de PBS 1X. Se colocó un frasco ámbar para realizar la elución y se pasó 1.5 mL de metanol con 2 retrolavados, se pasó 1.5 mL de agua y realizaron 2 retrolavados.

Derivatización

Se realizó una derivatización pre columna para intensificar la fluorescencia de las fumonisinas mezclando 100 μL de muestra purificada con 100 μL de reactivo OPA, la inyección deberá realizarse antes de 2 minutos (Trucksess, 2005).

Reactivo OPA

Consta de 120 mg Ortho-phthaldialdehydo (OPA) + 3 mL metanol + 12 mL buffer borato + 179 μL thioglycerol

En la Tabla 4.3 se muestran las condiciones de HPLC utilizadas para el análisis de fumonisinas.

Tabla 4.3 Condiciones de HPLC para la cuantificación de fumonisinas

Fase móvil	Sol A: 99 % ACN 1 % AC acético glacial Sol B 99 % H ₂ O ultrapura 1 % Ac Acético glacial
Gradiente de fase móvil	0.1-9 min 59 % sol B 9-16 min 39 % Sol B 20-25 min 59 % Sol B
Flujo	1 mL min^{-1}
Tipo de columna	C ₁₈ fase inversa DS de 1 a 5 μm
Temperatura de Columna	35 °C
Volumen de inyección	100 μL
Excitación	335 nm
Emisión	440 nm

Curva de calibración para la cuantificación de fumonisinas

La Tabla 4.4 muestra la concentración y modo de preparar de los estándares utilizados para la curva de calibración para fumonisinas.

Tabla 4. 4 Concentración de los estándares de aflatoxinas utilizados para la preparación de la curva de calibración

Estándar	Concentración de fumonisina (ng mL ⁻¹)	Solvente Acetonitrilo Agua	Volumen de solución de fumonisina
Estándar 0 (S0)	5000 ng mL ⁻¹ FB1 1500 ng mL ⁻¹ FB2	3800 µL	200 µL Sm (100 µg/mL FB1, 30 µg/mL FB2)
Estándar 1 (S1)	500 ng mL ⁻¹ FB1 150 ng mL ⁻¹ FB2	3600 µL	400 µL S0
Estándar 2 (S2)	250 ng mL ⁻¹ FB1 75 ng mL ⁻¹ FB2	2000 µL	2000 µL S1
Estándar 3 (S3)	100 ng mL ⁻¹ FB1 30 ng mL ⁻¹ FB2	2400 µL	1600 µL S2
Estándar 4 (S4)	50 ng mL ⁻¹ FB1 15 ng mL ⁻¹ FB2	2000 µL	2000 µL S3
Estándar 5 (S5)	10 ng mL ⁻¹ FB1 3 ng mL ⁻¹ FB2	3200 µL	800 µL S4
Estándar 6 (S6)	5 ng mL ⁻¹ FB1 1.5 ng mL ⁻¹ FB2	2000 µL	2000 µL S5

4.1.7 Análisis estadístico de datos

En esta sección se describen las pruebas utilizadas para el análisis estadístico de los datos, utilizadas para la evaluación probabilística de riesgo.

4.1.7.1 Generación de las funciones de densidad de probabilidad

Los estadísticos descriptivos y funciones de densidad de probabilidad (PDF) fueron estimados utilizando @Risk6 (Palisade, Inc.). Los estadísticos descriptivos incluyeron media, mediana, moda, desviación estándar y el 95 percentil. Todos los cálculos fueron realizados bajo un enfoque probabilístico.

4.1.7.1.1 Generación de la PDF de contaminación por micotoxinas

A partir de los datos de contaminación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas), se construyó una función de densidad de probabilidad para cada temporada analizada. Cuando la contaminación en la muestra se encontraba por debajo de los límites de cuantificación del equipo, se utilizaron dos criterios según el límite superior y el inferior, los cuales son descritos en la Tabla 4.5.

Tabla 4. 5 Límites de contaminación superior e inferior utilizados para el cálculo de aflatoxinas totales

Señal del HPLC	Límite Inferior	Límite Superior
< límite de detección (LOD)	0	LOD
< Límite de cuantificación (LOQ)	LOD	LOQ

4.1.7.1.2 Generación de la PDF del peso de la población

La función de densidad de probabilidad del peso de la población se generó a partir de los datos de las 2 encuestas realizadas: el diario de consumo y el cuestionario de frecuencia de consumo.

4.1.7.1.3 Generación de la PDF de Ingesta diaria estimada (EDI) de micotoxinas por consumo de tortilla de maíz

Los datos del diario de consumo fueron expresados en términos de tortillas consumidas por día. Dependiendo de la tortillería, la cantidad de maíz en una tortilla puede variar por algunos gramos. Para tomar en consideración esta diversidad, 40 tortillas de diferente tortillerías fueron pesadas y se generó una función de densidad de probabilidad del peso de tortillas de maíz, similarmente fue construida una PDF del contenido de maíz en tortilla. El contenido de maíz en tortilla se determinó por diferencia en el contenido de humedad, utilizando el método de estufa al vacío de la AOAC 32.1.03 (2006), suponiendo que el contenido de sólidos en una tortilla provienen en su totalidad del maíz.

$$\% \text{ maíz en tortilla} = 100 - \left(\frac{\text{Peso de tortilla húmeda} - \text{Peso de tortilla seca}}{\text{Peso de tortilla húmeda}} \right) (100)$$

Para determinar el contenido de maíz en los productos derivados de maíz diferentes a la tortilla, se preparó cada uno de los productos presentes en el cuestionario de frecuencia de consumo, en sus tres diferentes porciones, se registró el maíz utilizado en cada alimento. Dichos alimentos fueron los presentados en el cuaderno fotográfico con el fin de que el encuestado eligiera el tamaño de porción.

Con el objetivo de caracterizar el consumo de maíz y posteriormente evaluar la exposición al consumo de micotoxinas, la población fue clasificada en diferentes grupos, de acuerdo al género, edad, educación, profesión y situación económica. Para cada grupo, el consumo de la población fue ajustada a una Función de Densidad de Probabilidad.

Las funciones de densidad de probabilidad del consumo de maíz proveniente de tortillas se obtuvieron mediante la Ecuación 1.

$$IMt_{PDF} = IT_{PDF}Pt_{PDF}CMt_{PDF}\dots(1)$$

Donde:

IMt_{PDF} = PDF de la Ingesta diaria de maíz proveniente de tortilla (g maíz d^{-9}).

IT_{PDF} = PDF de la Ingesta de tortillas por día (Tortillas / d^{-1}).

Pt_{PD} = PDF del peso de las tortillas en la ciudad de Veracruz (g tortilla $tortilla^{-1}$).

CMt_{PDF} = PDF del contenido de maíz en tortilla de maíz (g maíz $g\ tortilla^{-1}$).

La ingesta de maíz proveniente de otros productos derivados de maíz diferentes a la tortilla se obtuvo mediante la Ecuación 2.

$$IMpd_i = FC_iCM_i\dots (2)$$

$IMpd$ = Ingesta de maíz proveniente de productos derivados del maíz (g $pieza^{-9}$).

FC = Frecuencia de consumo diario ($piezas\ día^{-1}$)

CM = Contenido de maíz (g maíz $pieza^{-1}$)

i = producto derivado de maíz

La ingesta alimentaria se ajustó a una función de densidad de probabilidad para los sectores estudiados y para la población consumidora total; sin embargo, para estimar el consumo de la población total (consumidores y no consumidores) se insertó una función binomial y mediante el método Monte Carlo (10,000 iteraciones) se tomaron valores proveniente de la PDF del consumo o de la población no consumidora, resultado una nueva PDF de la ingesta de maíz para la población total (consumidores y no consumidores).

La ingesta diaria se estimó mediante la Ecuación 3

$$EDI = \frac{IMt_{PDF}Ct_{PDF}}{Pp_{PDF}} \dots (3)$$

Donde:

EDI = PDF de la ingesta diaria estimada $\frac{ng}{kg \text{ peso corporal día}}$

IMt_{PDF} =PDF de la Ingesta diaria de maíz proveniente de tortilla $\frac{g}{día}$

Ct_{PDF} = PDF Contaminación de tortillas $\frac{ng}{g}$

Pp_{PDF} =PDF Peso de la población kg

Se aplicó el método Monte Carlo con 10,000 iteraciones.

4.1.8 Análisis comparativo entre funciones de densidad de probabilidad

Se empleó la prueba Mann-Whitney para diferenciar estadísticamente entre dos distribuciones de probabilidad. Cuando la comparación fue entre mas de dos PDF se utilizó Kruskal-Wallis. El nivel de significancia utilizado en ambas pruebas fue de 5 % (XLSTAT, Addinsoft).

Cuando la diferencia entre el número de datos a ser comparado fue mayor del 50 % de la muestra mayor, se utilizó un re muestreo utilizando el método Monte Carlo (Palisade @Risk software) para obtener una nueva PDF con el mismo número de datos y realizar la comparación entre las muestras. Este procedimiento es válido únicamente cuando el número de datos es lo suficientemente grande para obtener una distribución robusta ($n > 30$).

Con el objeto de estimar el efecto del género, peso y edad en los patrones de consumo se construyó modelo estadístico lineal presentado en la Ecuación (4).

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_1 x_{i2} + \beta_1 x_{i3} + \beta_{13} x_{i1} x_{i3} + \beta_{23} x_{i1} x_{i3} + \varepsilon_i \dots \text{Ecuación (4)}$$

Donde y_i es el consumo (kg) del consumidor i , x_{i1} es el peso (codificado) del consumidor i , x_{i2} es la edad (codificada) del consumidor i y x_{i3} es una variable Booleana (0,1) que define si el consumidor i , es mujer (1) u hombre (0). Las codificaciones para las variables x_{i1} y x_{i2} son:

$$x_{i1} = (w_i - \bar{w}) / \Delta w_{\max} \quad (5)$$

$$x_{i2} = (a_i - \bar{a}) / \Delta a_{\max} \quad (6)$$

En ecuaciones (5) y (6) w_i es el peso (kg) del consumidor i , a_i es la edad (en años) del consumidor i , \bar{w} es el peso promedio (kg) de todos los consumidores encuestados, \bar{a} es el promedio (años) de todos los consumidores encuestados, Δw_{\max} es la máxima diferencia entre el peso de un consumidor (kg) respecto al peso promedio y Δa_{\max} es la máxima diferencia entre la edad de un consumidor (años) respecto a la edad promedio. Ecuaciones (5) y (6) aseguran que las variables x_{i1} y x_{i2} estén en el rango de (-1,1) lo cual implica la máxima eficiencia en un problema de matriz inversa, requerida para la estimación por mínimos cuadrados de los parámetros β_j .

Ajustando la ecuación (4) por mínimos cuadrados en el resultado del consumo de todos los consumidores, obtenemos el consumo promedio (β_0), el efecto del género en el consumo (β_3), quitando la variabilidad en el consumo introducida por el peso y la edad (β_1 , β_2), y contemplando el efecto de las posibles interacciones entre género y peso (β_{13}) y género y edad (β_{23}). Además, el ajuste de mínimos cuadrados de la ecuación (4) al consumo de todos los consumidores con significancia estadística de los parámetros (β_j) es equivalente a un análisis de covarianza (ANCOVA) de dos tratamientos (hombre y mujer) con peso y edad como variables de covarianza.

4.1.9 Cálculo de exposición del riesgo por consumo de micotoxinas en tortilla de maíz

El porcentaje de población en riesgo se determinó mediante el área bajo la curva del IDE a la derecha de la Ingesta diaria tolerada (TDI) o Ingesta diaria aceptada (ADI).

4.2 Efecto de la nixtamalización sobre la degradación de aflatoxinas y fumonisinas en maíz

Se evaluó el efecto de la concentración de Ca(OH)_2 y tiempo de cocción sobre la cinéticas de degradación de micotoxinas durante la nixtamalización. Maíz naturalmente contaminado fue nixtamalizado bajo diferentes concentraciones de Ca(OH)_2 . El contenido de micotoxinas (aflatoxina y fumonisina) fue determinado durante el tratamiento térmico (tres muestreos cada 15 minutos), reposo (tres muestreos cada 5 horas) y después del lavado.

4.2.1 Materia prima

Se trabajó con lotes de maíz (*Zea mays L.*) con un contenido de humedad del 12 %. Se evaluaron diversos lotes por los métodos rápidos (inmunoensayo de flujo lateral o por adsorción) hasta encontrar alguno con un alto contenido de aflatoxinas y/o fumonisinas. El Ca(OH)_2 utilizado fue de la marca comercial NIXTACAL del grupo Calidra.

4.2.2 Pretratamiento de la muestra

Los granos de maíz nixtamalizado antes de ser analizados fueron secados en un liofilizador LABCONCO Modelo Freezone 1, molido en un molino MAZAL tipo 011158 con un diámetro de malla de 0.5 mm.

4.2.3 Condiciones de nixtamalización

Una vez seleccionado el maíz contaminado, los granos fueron homogeneizados y se dividieron en cuatro lotes de 2 kg cada uno. De cada lote, homogeneizado nuevamente, se tomó una muestra de 50 g, los cuales fueron mezclados para determinar el contenido inicial de micotoxinas en las muestras antes de los tratamientos (total 200 g). El tiempo del tratamiento térmico fue de 45 min seguido de un reposo de 16 horas y un lavado con agua (200 % respecto al contenido inicial del maíz). Se realizaron seis diferentes tratamientos de nixtamalización los cuales se detallan en la Tabla 4.6 y fueron analizados mediante inmunoensayo de flujo lateral.

Tabla 4. 6 Tratamientos utilizados para el experimento 1 de la la nixtamalización de los granos maíz

Temperatura de proceso	Concentración de Ca(OH)_2
Temperatura de ebullición (100 °C)	0.5 % de Ca(OH)_2
Temperatura de ebullición (100 °C)	1.0 % de Ca(OH)_2
Temperatura de ebullición (100 °C)	3.0 % de Ca(OH)_2
Temperatura de laboratorio (20 °C)	1.0 % de Ca(OH)_2
Temperatura de ebullición (100 °C)	----

En cada punto la mezcla era homogeneizada y se tomaban 200 gr de muestra para el maíz y 400 gr para el nejayote, la muestra fue congelada (-40 °C), liofilizada y almacenada a -40 °C hasta su análisis. Una nixtamalización es adecuada si al final del tratamiento térmico la parte externa del grano esta totalmente cocida y el centro crudo; además, el pericarpio se debe desprender con facilidad en el momento del lavado (Ver Figura 4.1).

**Figura 4. 1** Pre tratamiento de la muestra para determinar el contenido de micotoxinas durante la nixtamalización

Se realizó una réplica para los tratamientos que mejor explicaron el efecto de las condiciones en el proceso de nixtamalización y fueron analizadas por HPLC-FD. Los tratamientos se detallan en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7 Tratamientos empleados para el experimento 2 de la nixtamalización de los granos de maíz

Temperatura de proceso	Concentración de Ca(OH) ₂
Temperatura del cuarto (20 °C)	1 % de Ca(OH) ₂
Temperatura de ebullición (100 °C)	----
Temperatura de ebullición (100 °C)	1 % de Ca(OH) ₂
Temperatura de ebullición (100 °C)	2 % de Ca(OH) ₂

4.2.4 Cuantificación de micotoxinas

La determinación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) para esta sección, se realizó por inmuno ensayo de flujo lateral y por cromatografía de líquidos de alta presión acoplado a un detector de fluorescencia.

4.2.4.1 Cuantificación de micotoxinas por método de inmunoensayo de flujo lateral

El análisis cuantitativo de las micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) se realizó mediante una prueba (kit) rápida de inmunoensayo de flujo lateral, ROSA (Rapid One Step Assay) de Charm Sciences, Lawrence, MA. Los análisis para maíz se realizaron por duplicado en cada etapa del proceso seleccionado.

4.2.4.1.1 Cuantificación de aflatoxinas

En el caso de las aflatoxinas, la prueba determinó las aflatoxinas totales (B1+B2+G1+G2). En una balanza analítica se pesaron 50 gramos de maíz molido, se mezclaron con 150 mL de etanol 50% durante 2 minutos, los extractos obtenidos fueron filtrados con papel Whatman número 4. Del filtrado fueron tomados 100 µL que se diluyeron en 1 mL de la dilución buffer (ROSA AFQ). Posteriormente se colocaron una tira de flujo lateral del kit de análisis de aflatoxinas en la incubadora ROSA-M, para añadirle 300 µL del extracto diluido y se incubó a 45 °C durante 10 minutos. Los resultados fueron leídos con el lector ROSA-M a través del canal AF.

4.2.4.1.2 Cuantificación de fumonisinas

En el caso de las fumonisinas, la prueba determinó fumonisinas totales ($FB_1+FB_2+FB_3$). En una balanza analítica se pesaron en tubos Falcon 50 gramos de maíz previamente molido, fueron mezclados con 150 mL de (etanol 50%) durante 2 minutos en un vórtex. El extracto se filtró con papel filtro Whatman número 4 y del filtrado se tomaron 100 μL que fueron diluidos en 1 mL de la dilución buffer (ROSA FUMQ, Sciences, Lawrence, MA) para preparar el primer extracto diluido. Si la concentración de fumonisinas era mayor a $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ se realizó una segunda dilución. En caso de ser necesaria una segunda dilución, se tomaban 300 μL del primer extracto diluido y se mezclaban con 1 mL de la dilución buffer (ROSA FUMQ). Para una tercera dilución muestras mayores de 6 ng kg^{-1} y hasta $60,000 \mu\text{g kg}^{-1}$ se tomaban 100 μL del segundo extracto diluido y se mezcló con 1 mL de la dilución buffer (ROSA FUMQ, Sciences, Lawrence, MA); posteriormente, se colocó una tira de flujo lateral del kit de análisis de fumonisinas en la incubadora ROSA-M, se le añadió 300 μL del extracto diluido de interés y se incubó a 45°C durante 10 minutos. Los resultados fueron leídos con el lector ROSA-M a través del canal FUM, 3 line mode, y en la matriz 00, 01 ó 02 según las diluciones utilizadas.

Los rangos de lectura para cada matriz son los siguientes:

- Matriz 00 de 0 – 1 (mg kg^{-1})
- Matriz 01 de 0 – 6 (mg kg^{-1})
- Matriz 02 de 6 – 60 (mg kg^{-1})

4.2.5 Cuantificación de micotoxinas por HPLC

La determinación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) para esta sección se realizó por Cromatografía de Líquidos de Alta Presión acoplado a un detector de fluorescencia.

4.2.5.1 Cuantificación de aflatoxinas

El análisis de aflatoxinas en maíz y nejayote se realizó mediante el procedimiento descrito en el apartado 4.3.1.

4.2.5.2 Cuantificación de fumonisinas

El análisis de fumonisinas en maíz y nejayote se realizó mediante el procedimiento descrito en el apartado 4.3.2

4.2.5.3 Cuantificación de micotoxinas por ensimunoanálisis de adsorción

Los análisis de micotoxinas se llevaron a cabo mediante un ensimunoanálisis por adsorción (ELISA por sus siglas en inglés) directo competitivo en un formato de pocillos. La micotoxina libre de muestras y controles compite con la micotoxina enzimo-marcada (conjugado) por los sitios de adsorción de los anticuerpos. Tras un lavado, se agrega un sustrato que reacciona con el conjugado adsorbido para producir una coloración azul que determinará la cantidad de aflatoxina presente. Cuando las densidades ópticas de los controles han formado la curva típica, se traza un gráfico de las densidades ópticas de la muestra contra dicha curva para calcular la concentración exacta de micotoxina. El equipo utilizado fue el Kit Veratox de NEOGEN, Lansing, MI, Estados Unidos de América USA, aprobado por USDA-GIPSA 2008-011.

4.2.5.3.1 Cuantificación de aflatoxinas por kits de ELISA

Con el fin de tomar una muestra representativa se homogenizaron las muestras de maíz molido, la molienda debía pasar a través de un tamiz de malla 20. La solución de extracción se preparó con 70 % de metanol y 30 % de agua destilada, se agitó durante 3 min. 10 g de muestra fue mezclado con 50 mL de la solución de extracción. El extracto se filtró con papel Whatman N° 1.

Se retiró un pocillo de mezcla, marcado en rojo, por cada muestra que se analiza, más 4 pocillos marcados de color rojo para los controles, y se colocó en el soporte de pocillos. Se retiró la misma cantidad de pocillos con revestimiento de anticuerpo. Los pocillos con los anticuerpos que no son utilizados se regresaron al paquete de papel metálico con desecante, cerrando el paquete de papel metálico para proteger el anticuerpo. Se mezcló cada reactivo antes de utilizarlo, se vertieron 100 μ L del conjugado procedente del frasco con etiqueta azul en cada pocillo de mezclar marcado en rojo. Se transfirieron 100 μ L de controles y muestras nuevamente a los pocillos de mezclar marcados en rojo.

Con una pipeta de 12 canales, se mezcló el líquido de los pocillos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 3 veces, se transfirieron 100 μ L a los pocillos con revestimiento de anticuerpo, se desecharon los pocillos de mezclar marcados en rojo, se fijó el cronometro en 2 minutos y se mezclaron los pocillos durante los primeros 10-20 segundos de las incubaciones a temperatura ambiente; para ello, se deslizó el soporte de pocillos hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana, con cuidado de no derramar los reactivos que los pocillos contienen. Se agitaron los pocillos de anticuerpos y se vació su contenido, se lavaron con agua destilada y se vaciaron, esta operación se repitió cinco veces y se secaron los pocillos. Se vertió un volumen necesario de sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en la cubeta de reactivo con etiqueta verde. Mediante una pipeta de 12 canales con puntas estériles, 100 μ L de sustrato se colocaron en los pocillos. Se fijó el cronometro por 3 minutos y se mezclaron los pocillos durante 20 segundos, deslizando el soporte hacia atrás y hacia

delante sobre una superficie plana. Se desechó el sustrato restante y se enjuagó la cubeta de reactivo con agua. Se vierte la solución "Red Stop" de ácido sulfúrico diluido en cada pocillo. Se mezclaron deslizándolos hacia atrás y adelante sobre una superficie plana. Se pasó un paño seco por el fondo de los pocillos y se leyó el resultado en un lector de pocillos utilizando un filtro de 650 nm. Se eliminaron las burbujas de aire. Los resultados se leyeron sin dejar pasar más de 20 minutos a la adición de "Red Stop" de ácido sulfúrico diluido. Se leyó y calculó el contenido de aflatoxinas con el lector de Stat Fax de Neogen o uno equivalente.

4.2.5.3.2 Cuantificación de fumonisinas por kits ELISA

Con el fin de tomar una muestra representativa las muestras de maíz molido se homogenizaron, el molido debe ser tal que pase a través de un tamiz de malla 20. La solución de extracción se preparó con 70 % de metanol y 30 % de agua destilada. Se agitó durante 3 min, 10 g de muestra se mezclaron con 50 mL de la solución de extracción. Se filtró el extracto, vertiendo la muestra a través de un filtro Whatman N° 1. La muestra se diluyó agregando 1 mL de extracto en 7 mL de agua destilada.

Se retiró un pocillo de mezcla marcado en rojo por cada muestra que se analizó más cinco pocillos marcados de color rojo para los controles y se colocaron en el soporte de pocillos. Se retiraron la misma cantidad de pocillos con revestimiento de anticuerpo. Se mezclaron cada reactivo agitando enérgicamente el frasco antes de utilizarlo. 100 µL del conjugado procedente del frasco con etiqueta azul se vertieron en cada pocillo de mezcla marcado en rojo. Se coloraron 100 µL de controles y muestras a los pocillos de mezcla marcados en rojo.

Con una pipeta de 12 canales, se mezcló el líquido de los pocillos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 3 veces. Se transfirieron 100 µL a los pocillos con revestimiento de anticuerpo. Se desecharon los pocillos de mezcla marcados en rojo. Se fijó el cronometro en 5 minutos y se mezclaron los pocillos durante el primer minuto de las incubaciones a temperatura ambiente; para ello, se deslizó el soporte de pocillos hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana, con cuidado de no derramar los reactivos que los pocillos contienen. Se agitaron los pocillos de anticuerpos para vaciar su contenido. Se llenaron los pocillos con agua destilada y se vacían. Esta operación se repitió cinco veces, se secaron los pocillos. Se vertió un volumen necesario de sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en la cubeta de reactivo con etiqueta verde. Mediante una pipeta de 12 canales con puntas estériles, 100 µL de sustrato son colocados en los pocillos. Se fijó el cronometro por 3 minutos y se mezclaron los pocillos durante 20 segundos, deslizándolo hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana. Se desechó el sustrato restante y se enjuagó la cubeta de reactivo con agua. Se vertió la solución "Red Stop" de ácido sulfúrico diluido en cada pocillo. Se mezcló deslizándolos hacia atrás y adelante sobre una superficie plana. Se pasó una toalla o un paño seco

por el fondo de los pocillos y se leyó el resultado en un lector de pocillos utilizando un filtro de 650 nm. Se eliminaron las burbujas de aire. Los resultados se leyeron dentro de los 20 minutos siguientes a la adición de "Red Stop". Se debe leer y calcular los resultados con el lector de Stat Fax de Neogen o uno equivalente.

4.2.6 Método Estadístico

Para determinar el valor crítico y realizar la comparación de los tratamientos se realizó un análisis de varianza aplicando una prueba Tukey con un intervalo de confianza del 95 %

$$\text{Valor crítico} = (\sqrt{CMR}) \left(\sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} \right) \left(\sqrt{\frac{q}{2}} \right) \dots \text{Ecuación (7)}$$

donde CMR es la media de los cuadrados de regresión

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Resultados de evaluación de riesgo

En esta sección se presentan y discuten los resultados de los objetivos específicos presentados en el apartado 3.

5.1.1 Encuesta de consumo de alimentos derivados de maíz

Los cuestionarios de consumo fueron contestados por 300 familias, las personas que completaron el diario de consumo de tortillas fueron 893, y el cuestionario de frecuencia de consumo, 685. El área comprendida para la realización de las encuestas se muestra en la Figura 5.1. las zonas cercanas al puerto de la ciudad fue descartado debido a que en esta zona no se encontraron tortillerías ni viviendas.



Figura 5. 1 Área delimitada de la ciudad de Veracruz utilizada para realizar el muestro y las encuestas de consumo alimentario

La Figura 5.2 muestra las coordenadas donde se llevó a cabo el muestreo de tortillas en Octubre de 2013, y la Figura 5.3, el Diario de consumo de tortilla de maíz.



Figura 5.2 Sitios de muestreo de tortilla de maíz en octubre 2013

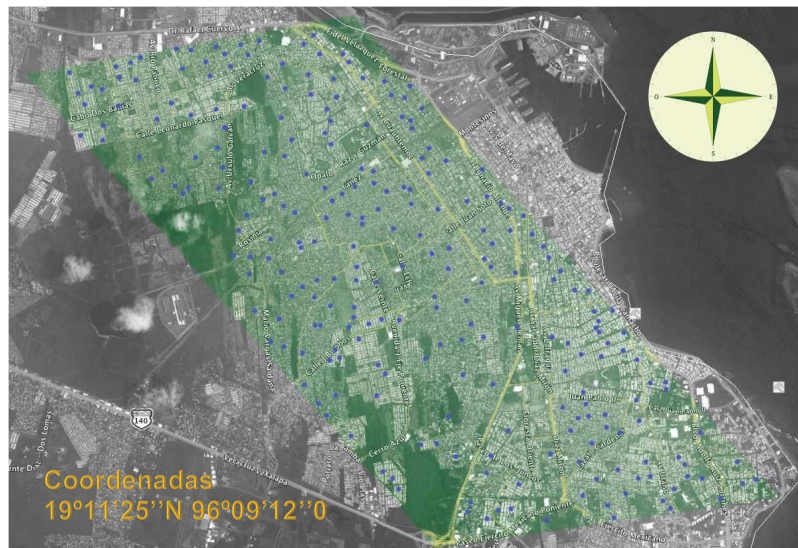


Figura 5.3 Sitios de aplicación de encuesta “Diarios de consumo de tortillas”

Los muestreos de los dos tipos de cuestionarios de consumo fueron aleatorios e independientes entre sí. Las características (edad y género) de la población obtenida fueron comparadas con la información reportada con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); las categorías de las clasificaciones realizadas se pueden ver en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1 Clasificación por edades y género en la población y muestra seleccionada de la ciudad de Veracruz

	Muestra Seleccionada		Población en la ciudad de Veracruz (INEGI, 2012)	Error relativo promedio	
	Diario de consumo Personas (%)	Cuestionario de frecuencia Personas (%)			
Total	856	685	552,156		
Mujeres	434 (50.70 %)	383 (55.9 %)	52.63 %	3.67 %	6.21 %
Hombres	422 (49.30 %)	302 (44.1 %)	47.37 %	4.07 %	6.90 %
5-15 años	134 (15.65 %)	110 (16.06 %)	18.34 %	14.66 %	12.43 %
15-65 años	671 (78.39 %)	530 (77.37 %)	73.23 %	7.04 %	5.65 %
> 65 años	51 (5.96 %)	45 (6.57 %)	8.43 %	29.30 %	22.06 %

Al comparar cada una de las categorías con los resultados oficiales (INEGI, 2015) se puede observar un porcentaje de error relativo promedio menor al 15 %, con excepción de la categoría “mayor a 65 años”. Esta diferencia se debe a la baja participación de personas en este rango de edad, cuya razón más frecuentes fue por la dificultad de seguir una encuesta ya sea porque involucran una participación por 3 días o por problemas para recordar su patrón de consumo. El Cuestionario de Frecuencia de Consumo de productos derivados del maíz fue respondido por menos personas debido a que éste era respondido únicamente por los integrantes de la familia que estuvieran presentes al momento que la casa seleccionada era visitada. En el caso del diario de consumo de tortillas, éste se dejaba para ser contestado por cada uno de los integrantes de la familia, colectando el diario de consumo de todos los integrantes al finalizar el periodo de 3 días. Por otro lado, el tiempo para encuestar 300 familias en un cuestionario de frecuencia de consumo fue menor que el del Diario de Consumo.

Las preguntas acerca de ocupación, nivel de estudios y salario del jefe de familia, fueron realizadas en ambos tipos de cuestionarios (n=600); sin embargo, un alto porcentaje de familias (mayor al 50 %) decidió no contestarlas. Con la proporción de encuestas que sí contestaron se compararon con datos oficiales, dicha comparación se muestra en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2 Ocupación del jefe de familia en los hogares de la ciudad de Veracruz (datos oficiales y resultados del muestreo)

Situación del Jefe de Familia	Proporción de Hogares	
Situación Laboral		AMECH, 2015
Empleado formal	52.88 %	30.2 %
Empleado informal	39.43 %	57.36 %
Negocio propio	7.69 %	7.76%
Sin empleo	0.00	4.68 %
<i>Sin respuesta</i>	65.33 %	
Nivel de estudios		INEGI, 2010
Universidad	25.49 %	13.8 %
Técnico	21.08 %	0.3 %
Preparatoria	19.61 %	17.0 %
Secundaria	23.04 %	
Primaria o sin estudios	10.78 %	68.5 %
* <i>Sin respuesta</i>	66.00 %	0.4 %

La diferencia entre los datos colectados por las encuestas y la referencia se debe a que esta última se refiere a la población mayor de 15 años, y no únicamente al jefe de familia, como en el caso de las encuestas (Los datos oficiales del nivel de estudios y situación laboral del jefe de familia no están disponibles). Otra posible causa podría ser un asunto de seguridad o privacidad. La proporción de familias que decidieron no contestar es diferente en cada nivel social evaluado;

La pregunta "¿Cuál es el salario del jefe de familia?" no fue contestada por el 86.67 % de las familias encuestadas, al ser tan alto el porcentaje, se optó realizar la clasificación socioeconómica de acuerdo a la zona donde habitan, utilizando el mapa "regiones socioeconómicas de México", publicados por INEGI en 2000 (dato más reciente), el mapa "regiones socioeconómicas de México" se puede ver en la Figura 5.4.

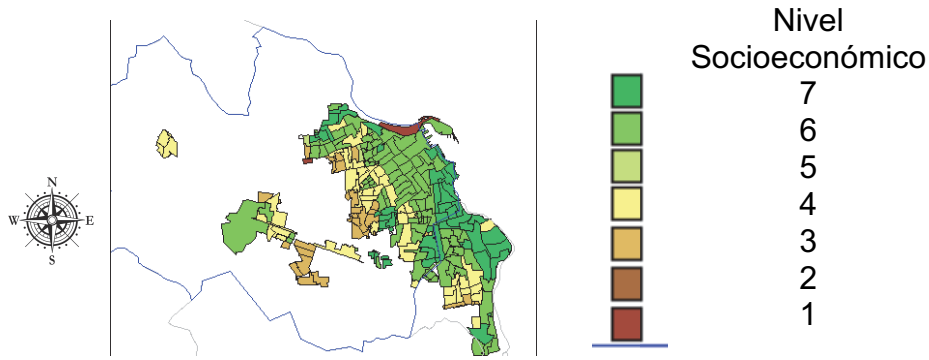


Figura 5.4 Regiones socioeconómicas de México, sección ciudad de Veracruz (INEGI,2000)

* Los estratos se numeran del 1 al 7 indicando con ello la situación en que se encuentran, así por un lado, el estrato 1 es el que se asocia con la situación menos favorable, por el contrario, el estrato 7 comprende a las unidades que reflejan la mejor situación. Así mismo se definió que los estratos altos (5, 6 y 7) estén asociados con los tonos verdes; el estrato medio (4) con el color amarillo y los estratos bajos (1, 2 y 3) con los tonos rojo y café. El tono más fuerte de verde está asociado al estrato 7 y baja la intensidad del color conforme se trata de los estratos 6 y 5, por otro lado el tono café claro está asociado al estrato 3, el café oscuro al estrato 2 y el tono rojo está asociado al estrato 1.

La Tabla 5.3 muestra la proporción de familias encuestadas en cada nivel socioeconómico y la proporción total, según los datos de INEGI, 2000.

Tabla 5.3 Status Socioeconómico de los habitantes de la ciudad de Veracruz

Nivel Socioeconómico*	% Muestra	% Población (INEGI, 2000)
7	15.3	18.31
6	49.25	47.08
5	0.37	1.07
4	23.14	21.65
3	10.45	11.79
2	0.00	0.00
1	0.37	0.10

* Nivel socioeconómico corresponde a las descripciones realizadas por INEGI en 2000

Aún cuando las proporciones entre los datos de INEGI, 2000 y las observadas corresponde en buena forma, no se puede asegurar que dichos sectores económicos permanezcan al día de hoy, por lo tanto se decidió descartar esta clasificación.

5.1.2 Diario de consumo de tortilla de maíz

El diario de consumo recopiló información acerca de los hábitos de compra y almacenamiento de tortilla de maíz, los cuales se pueden observar en la Tabla 5.4.

Tabla 5. 4 Hábitos de compra y almacenamiento de tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz

	Proporción de hogares
Frecuencia de Compra	
Todos los días	75.67 %
Cada tercer día	13.00 %
Dos veces a la semana	8.00 %
Una vez a la semana	2.33%
Menos de una vez a la semana	1.00 %
Cantidad de Compra	
3 kg o más	0 %
2 kg – 2.5 kg	16.34 %
1.5 kg	15.53 %
1 kg	34.67 %
0.5 kg	31.33 %
menor que 0.5 kg	2.33 %
Lugar de compra	
Repartidor	43.67 %
Tortillería	41.33 %
Abarrotes	6.33 %
Tienda de conveniencia	5.34 %
Supermercado	3.33 %
Tiempo de almacenamiento	
1-3 días	83.67 %
3-6 días	7.33 %
1 semana	5.33 %
Más de 1 semana	3.67 %

Como se mencionó con anterioridad, las tortillas son un alimento muy consumido en la ciudad de Veracruz, los resultados demuestran que únicamente el 1 % de los hogares compra tortilla con una frecuencia menor a una vez a la la semana. La cantidad de compra depende de diversos factores como: el tamaño de la familia, el consumo individual y la frecuencia de compra, únicamente el 2.33 % de la población realiza una compra menor a 0.5 kg. En cuanto al lugar donde la población compra las tortillas, el 85 % prefiere realizarlo directamente en la tortillería o con repartidores, dejando a las tiendas de abarrotes, de conveniencia y supermercados con el restante. Refrigeración es el método más común para el almacenamiento, con un 91.3 %, razón por la cual el 83.67 % de la población afirmó conservar sus tortillas de uno a tres días únicamente, con lo cual, se reduce la posibilidad de un incremento de contaminación por micotoxinas durante el almacenamiento.

5.1.2.1 Caracterización de la tortilla de maíz

La Figura 5.5 muestra la función de densidad del peso de las tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz, el peso de una tortilla de maíz iba desde los 16 hasta los 34 gramos aproximadamente, dependiendo del lugar de compra. Las tortillas que son elaboradas con harina de maíz nixtamalizado generalmente son de menor peso comparado con las que nixtamalizan *in situ*. Los datos observados fueron ajustados a una distribución normal para constriuir la PDF.

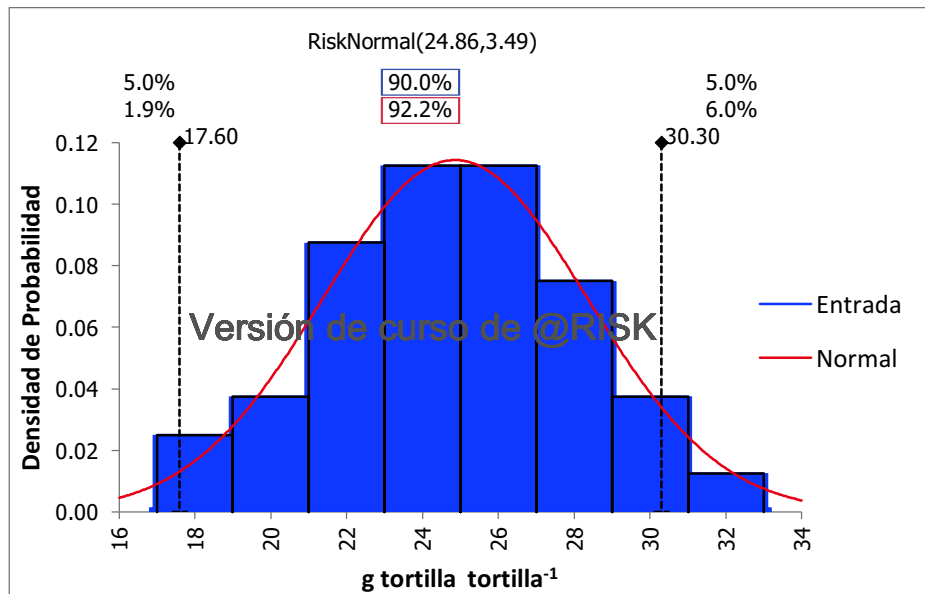


Figura 5.5 PDF del peso de tortillas en la ciudad de Veracruz

De manera similar en la figura 5.6 se muestra la PDF del contenido de maíz, la cual se ajustó a una distribución normal.

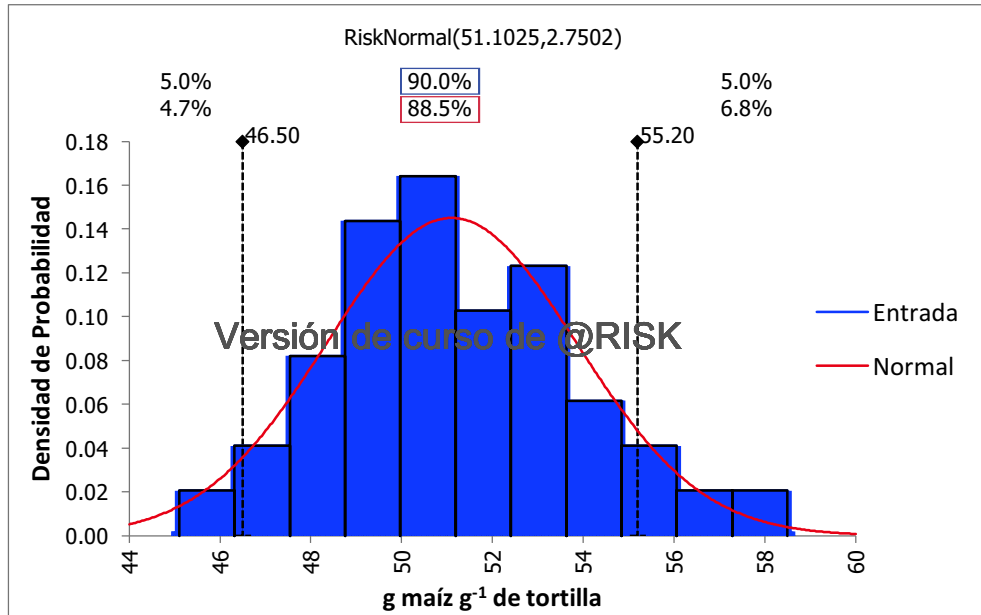


Figura 5.6 PDF del contenido de maíz en tortilla de la ciudad de Veracruz

La Tabla 5.5. muestra los parámetros de las PDF del peso y el contenido de maíz de las tortillas en la ciudad de Veracruz. Los datos de entrada se refieren a los parámetros de los valores observados y la simulación se refiere al ajuste hecho por la PDF.

Tabla 5.5 Comparación del peso de las tortillas en la ciudad de Veracruz y de su contenido de maíz con los obtenidos por ajuste de la distribución normal

	N	Promedio		Mediana		Desviación estándar		P95	
		Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación
Peso de tortillas	40	24.86 (g)	24.86 (g)	24.86 (g)	24.86 (g)	3.49	3.49	30.30 (g)	30.60 (g)
Contenido de maíz en tortilla	40	51.10 %	51.10 %	50.80 %	50.10 %	2.75	2.75	55.20 (g)	55.63 %

5.1.2.2 Consumo de tortilla de maíz

Se obtuvo el consumo diario promedio de tortillas y los datos fueron ajustados a una PDF. Una persona era considerada consumidor si consumía tortilla al menos en uno de los tres días en los que era aplicado el diario de consumo de tortilla. La población no consumidora fue introduciendo mediante una función binomial con 100,000 iteraciones utilizando el método Monte Carlo.

La Tabla 5.6 muestra el porcentaje de consumidores de tortilla para cada tiempo de comida, diferenciando entre hombres y mujeres. La hora de la comida resultó ser el momento en que el mayor porcentaje de personas consumieron tortilla, con un 98.01 %, y el menor fue el desayuno con un 72.2 % de consumidores.

Tabla 5. 6 Porcentaje de consumidores de tortilla en cada tiempo de comida

Tiempo de comida	Total (%)	Hombres (%)	Mujeres (%)
Consumidores en desayuno	616 (72.20 %)	305 (72.51 %)	310 (71.43 %)
Consumidores en comida	839 (98.01 %)	414 (98.01%)	425 (97.92 %)
Consumidores en cena	684 (79.91 %)	349 (82.70 %)	335 (77.19 %)
Consumidores Totales	843 (98.48%)	419 (99.29 %)	424 (97.70 %)

En la Tabla 5.7 se muestran los parámetros estadísticos de la PDF del consumo de tortilla (número de piezas). La población masculina consume más tortillas que las mujeres y el rango de edad que tiene el mayor consumo de tortillas es entre los 14 y 65 años. El promedio del número de tortillas consumidas por la población, incluyendo hombres y mujeres, es 9.29 tortillas. El consumo en el percentil 95 es de 26.70 tortillas.

Tabla 5.7 Función de densidad de Probabilidad del consumo diario de tortillas en la ciudad de Veracruz

Clasificación	Número de consumidores	Promedio (Piezas)		Mediana (Piezas)		Desviación estándar		Percentil 95 (Piezas)		Diferencia estadística
		Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	
Hombres	843	11.31	11.31	9.67	9.52	8.64	7.94	27.66	26.70	A
Mujeres	843	7.48	7.48	6.66	6.36	5.61	5.09	15.67	17.32	B
5-15 años	843	6.72	6.87	4.67	5.30	8.01	5.85	19.33	18.42	D
15-65 años	843	10.02	10.04	8.11	8.57	7.45	6.75	24.67	23.06	A
> 65 años	843	7.01	7.01	6.33	5.91	4.90	4.90	13.33	16.50	D
Total	843	9.29	9.37	8.00	7.81	7.53	6.73	24.00	22.45	C

* Debido a la diferencia en cada clasificación un re muestreo fue realizado aplicando el Método Monte Carlo a partir de los datos de entrada, se realizaron 843 iteraciones para cada clasificación

Diferentes letras indican diferencia significativa. Las comparaciones fueron realizadas con una prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis con una p=0.05

La Figura 5.7 muestra la PDF del consumo diario de tortillas para la población de la ciudad de Veracruz. Un 5 % de la población consume menos de 1.7 tortillas diarias, mientras que otro 5 % consume más de 24 tortillas por día.

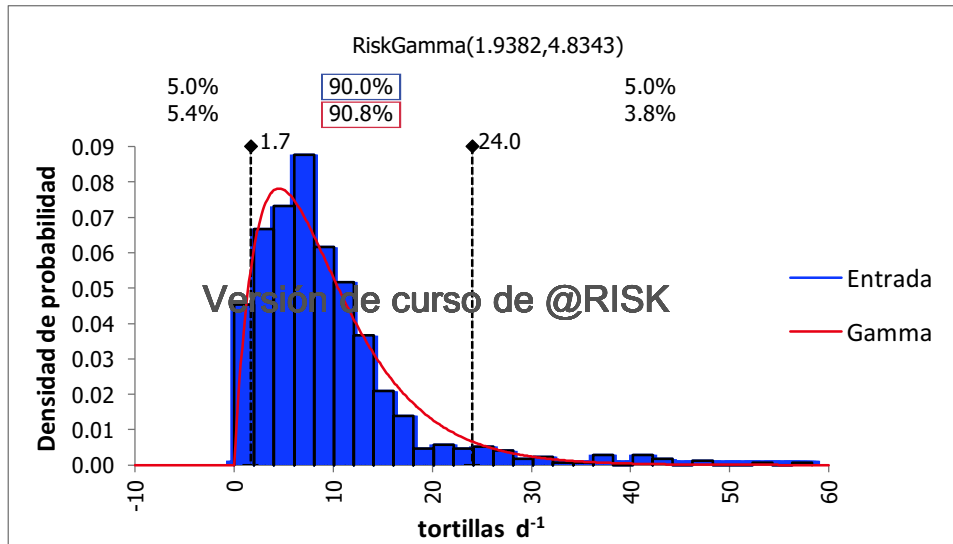


Figura 5.7 Función de densidad del consumo de tortilla en la ciudad de Veracruz, ajustada a una distribución gamma

La Tabla 5.8 muestra el consumo diario de maíz a partir de la ingesta de tortilla, para las clasificaciones estudiadas. Para incluir la variabilidad del contenido de maíz en una tortilla, dependiendo del lugar de compra, se utilizó el método Monte Carlo con 10,000 iteraciones entre las PDF del peso de la tortilla y contenido de maíz descritas en la sección 5.1.2.1 Caracterización de la tortilla de maíz.

Tabla 5. 8 Parámetros estadísticos de la PDF de la ingesta diaria de maíz proveniente de tortilla de maíz para la población de la ciudad de Veracruz

Categoría	Promedio g maíz d ⁻¹	Mediana g maíz d ⁻¹	Desviación estándar g maíz d ⁻¹	Percentil 95 g maíz d-1
Hombres	142.85	117.95	104.09	344.45
Mujeres	94.33	79.17	66.40	221.51
5-15 años	85.32	64.59	76.62	236.17
15-65 años	124.98	105.05	90.42	297.50
<65 años	87.37	72.49	64.81	211.20
Total	118.43	97.43	88.26	292.08

La Figura 5.8 muestra la función de densidad de probabilidad para la ingesta diaria de maíz proveniente de tortilla para los consumidores de la ciudad de Veracruz (hombres y mujeres). Se puede observar un consumo medio de 118.43 g de maíz d⁻¹ y existe un 5 % de probabilidad de encontrar consumidores con una una ingesta mayor a 290 g de maíz por día.

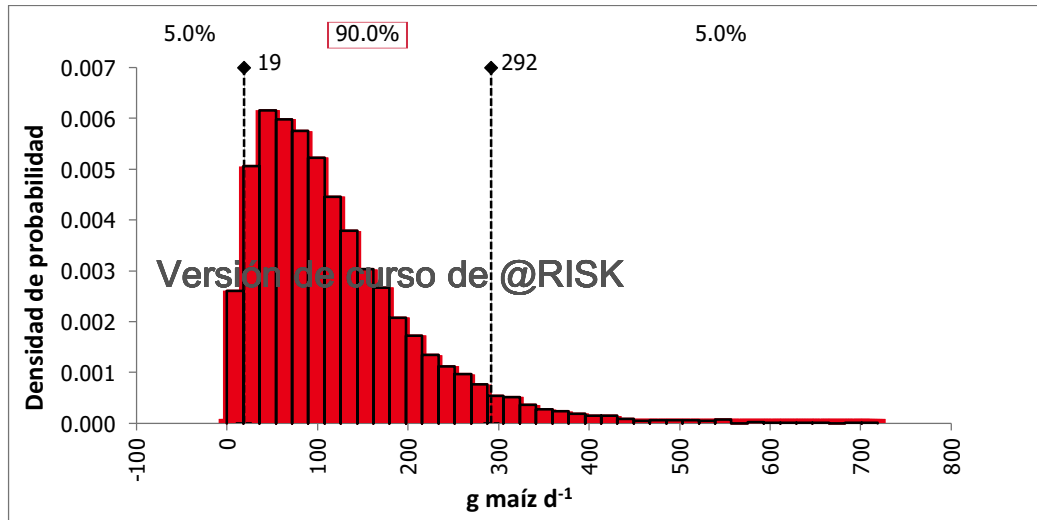


Figura 5. 8 PDF de la ingesta de tortilla para los consumidores de la ciudad de Veracruz (g maíz d⁻¹).

5.1.2.3 Caracterización de los productos derivados de maíz

En la Tabla 5.9 se muestra el contenido de maíz en los productos presentados en el cuaderno fotográfico, incluido en el cuestionario de frecuencia de consumo.

Tabla 5. 9 Contenido de maíz en productos derivados de maíz en las porciones presentadas en el cuestionario de frecuencia de consumo

Producto	Contenido de Maíz (g)		
	Pequeña	Mediana	Grande
Tacos	8.4	12.4	15.3
Tamales	12.9	20.2	30.0
Tostadas	8.4	12.4	15.3
Esquites	15.9	30.0	42.9
Antojitos	15.9	21.5	32.0
Atole	4.8	6.0	9.1
Chilaquiles	49.7	76.6	103.4

La Tabla 5.10 muestra el porcentaje de consumidores para cada producto derivado de maíz, tacos, antojitos y chilaquiles son los alimentos con mayor porcentaje de consumidores, tomando en cuenta la población total.

Tabla 5. 10 Consumidores de productos derivados de maíz de la ciudad de Veracruz

Alimentos	Consumidores		
	Total (%)	Hombres (%)	Mujeres (%)
Tacos	97.37	97.68	97.13
Antojitos	96.64	98.34	95.30
Chilaquiles	89.49	88.74	90.08
Tostadas	86.13	88.08	84.60
Tamales	74.45	79.14	70.75
Esquites	56.79	55.30	57.96
Atole	33.14	32.45	33.68

La Tabla 5.11 muestra la PDF del consumo diario de maíz proveniente de cada producto derivado del maíz para los consumidores de la ciudad de Veracruz (hombres y mujeres), y la Tabla 5.12 y 5.13 para hombres y mujeres, respectivamente. Los datos de consumo de productos derivados de maíz se ajustaron a una distribución gamma.

Tabla 5. 11 PDF de la ingesta diaria de maíz para consumidores de alimentos derivados de maíz en la ciudad de Veracruz

Alimento	Consumidor (hombres y mujeres)							
	Media		Mediana		Desviación estándar		Percentil 95	
	(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)				(g maíz d ⁻¹)	
	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación
Tacos	20.21	20.21	16.80	14.14	17.90	19.93	55.20	60.04
Tamales	10.31	10.27	8.65	8.80	6.98	6.82	23.09	23.58
Tostadas	6.90	6.90	4.28	4.7	7.27	7.01	21.86	20.90
Esquites	4.46	4.46	3.07	3.63	3.52	3.41	12.25	11.12
Antojitos	39.88	39.88	34.07	32.51	29.46	30.31	99.94	99.92
*Atole	1.059	1.06	0.85	0.80	1.12	0.94	2.6	2.93

Chilaquiles	20.13	20.13	14.77	17.54	13.47	12.68	59.85	44.67
--------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Tabla 5. 12 PDF de la ingesta diaria de maíz para consumidores de alimentos derivados maíz en la ciudad de Veracruz en hombres.

Hombres									
Alimento	n	Media		Mediana		Desviación estándar		Percentil 95	
		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)	
		Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación
Tacos	295	27.81	27.81	21.60	22.68	20.64	21.12	72.00	69.06
Tamales	239	13.25	13.25	11.54	11.65	7.91	8.06	28.86	28.65
Tostadas	266	16.07	16.07	12.00	11.69	13.79	15.03	43.2	45.93
Esquites	167	5.30	5.30	4.29	4.65	3.36	3.26	12.26	11.3
Antojitos	297	40.49	40.49	34.07	33.16	29.01	30.47	99.94	99.95
*Atole	98	1.05	1.05	0.86	0.78	1.12	1.82	2.60	2.96
Chilaquiles	268	23.46	23.46	20.68	20.36	15.31	14.98	59.09	52.25

Tabla 5. 13 PDF de la ingesta de maíz diaria para consumidores de alimentos derivados del maíz de la ciudad de Veracruz en mujeres

Mujeres									
Alimento	n	Media		Mediana		Desviación estándar		Percentil 95	
		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)		(g maíz d ⁻¹)	
		Datos de entrada	Simulación	Datos de entrada	Simulación			Datos de entrada	Simulación
Tacos	372	14.20	14.20	10.89	9.38	12.48	15.05	36.00	44.34
Tamales	271	7.72	7.72	6.06	6.72	4.72	4.92	17.31	17.17
Tostadas	324	10.93	10.93	8.74	9.34	7.63	7.63	25.20	25.15
Esquites	222	3.83	3.83	2.86	2.99	3.51	3.19	12.26	10.12
Antojitos	365	33.05	33.30	27.43	26.95	24.40	25.12	79.50	82.12
*Atole	129	1.063	1.063	0.87	0.81	1.14	0.93	2.60	2.90
Chilaquiles	345	17.54	17.54	14.77	15.51	11.19	10.46	29.54	37.49

Los alimentos que tienen el mayor aporte al consumo diario de maíz son: antojitos, tacos y chilaquiles. El consumo en la población masculina es mayor que en la femenina excepto para atole, donde no hubo una diferencia significativa entre las distribuciones de probabilidad. Las comparaciones fueron realizadas con una prueba no paramétrica Mann-Whitner con un nivel de significancia de 5 %.

Los datos del consumo de cada producto derivado de maíz se ajustaron a una PD mediante una función gamma. En la Figura 5.9 se muestra la función de densidad de probabilidad para la ingesta de antojitos en consumidores de la ciudad de Veracruz.

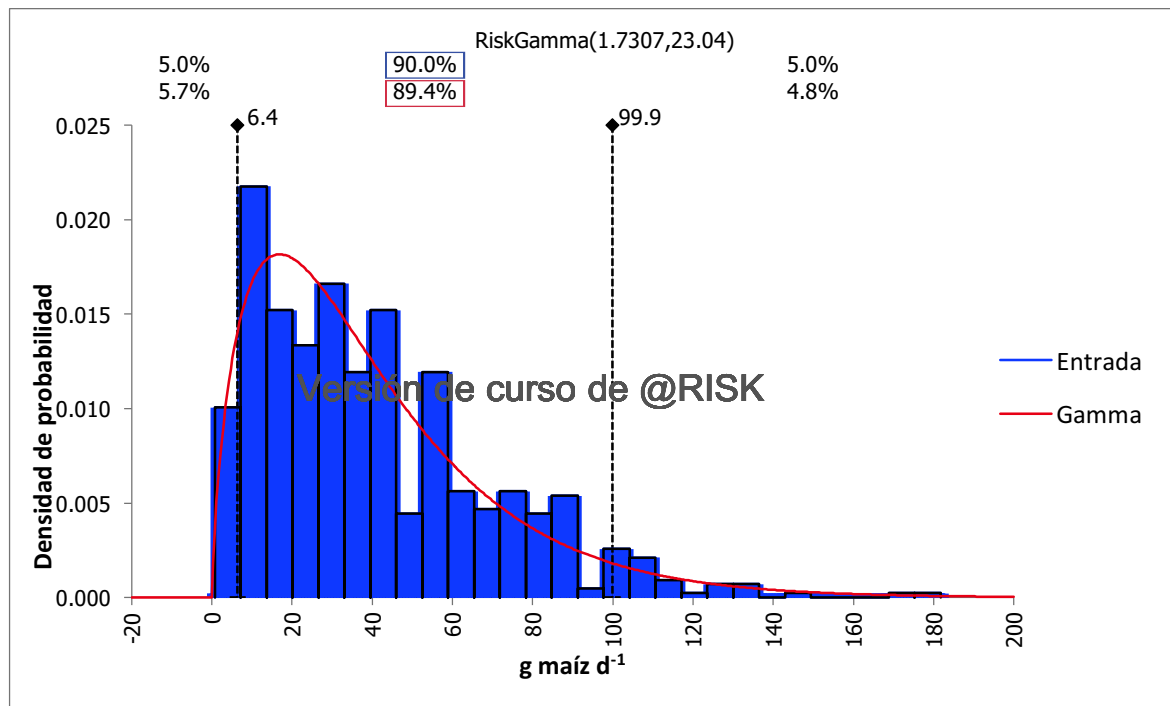


Figura 5.9 PDF de la ingesta de antojitos para los consumidores de la ciudad de Veracruz, ajustado a una función Gamma,

La población no consumidora se introdujo en la PDF de la ingesta de maíz de cada producto mediante una función binomial, la cual tomaba valores de 0, o de la PDF según el porcentaje de consumidores de cada producto derivado de maíz. Se realizaron 10,000 iteraciones para construir la ingesta diaria estimada (incluyendo consumidores y no consumidores) de maíz en la ciudad de Veracruz

La Tabla 5.14 muestra los parámetros de la simulación de la ingesta de alimentos derivados del maíz para la población de la ciudad de Veracruz. La clasificación hombres y mujeres se puede ver en las Tablas 5.15 y 5.16.

Tabla 5. 14 Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población total de la ciudad de Veracruz

Consumidores y no Consumidores				
Alimento	Consumo medio (g maíz d ⁻¹)	Mediana (g maíz d ⁻¹)	Desviación estándar (g maíz d ⁻¹)	Percentil 95 (g maíz d ⁻¹)
Tacos	19.40	13.55	19.14	58.83
Tamales	7.71	6.30	7.47	22.22
Tostadas	6.94	3.66	6.95	19.88
Esquites	2.46	0.99	3.36	9.29
Antojitos	38.09	31.26	29.41	96.7
Atole	0.34	0.00	0.73	1.93
Chilaquiles	17.95	15.89	13.24	42.98

Tabla 5. 15 Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población masculina de la ciudad de Veracruz

Consumidores Hombres				
Alimento	Consumo medio (g maíz d ⁻¹)	Mediana (g maíz d ⁻¹)	Desviación estándar (g maíz d ⁻¹)	Percentil 95 (g maíz/día)
Tacos	26.62	22.00	20.04	66.81
Tamales	10.35	9.27	8.72	26.81
Tostadas	13.70	9.56	13.90	42.59
Esquites	2.90	1.72	3.49	9.79
Antojitos	46.67	29.51	32.81	111.87
Atole	0.33	0.00	0.69	1.87
Chilaquiles	20.81	18.19	15.94	50.79

Tabla 5. 16 Simulación del consumo diario de productos derivados de maíz para la población femenina de la ciudad de Veracruz

Consumo en Mujeres				
Alimento	Consumo medio (g maíz d ⁻¹)	Mediana (g maíz d ⁻¹)	Desviación estándar	Percentil 95 (g maíz d ⁻¹)
Tacos	13.67	9.80	12.93	40.29
Tamales	5.44	4.47	5.48	15.84
Tostadas	9.12	7.80	7.55	23.66
Esquites	2.15	0.93	2.88	8.21
Antojitos	30.57	25.35	23.45	77.63
Atole	0.36	0.00	0.72	1.96
Chilaquiles	15.65	14.11	10.95	36.24

En la Figura 5.10 se muestra la Ingesta diaria de tamales para la población de la ciudad de Veracruz (consumidores y no consumidores), de la misma manera fue estimada para cada producto derivado de maíz.

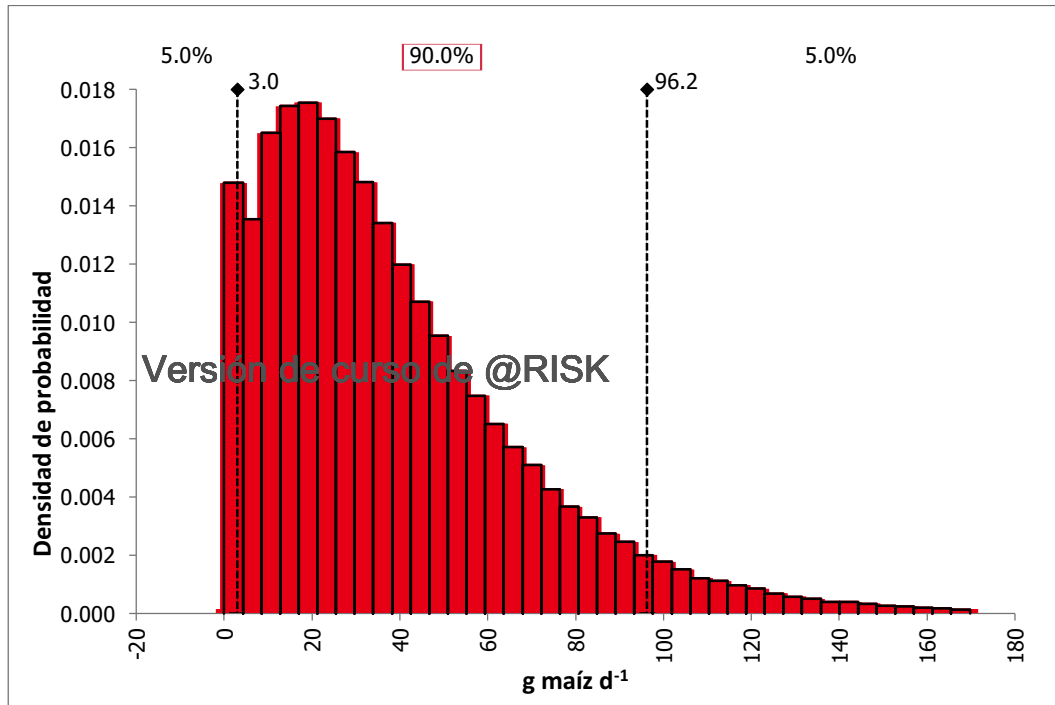


Figura 5. 10 Ingesta diaria estimada (EDI) del consumo de Tamales en la ciudad de Veracruz

La Tabla 5.17 muestra el Análisis de covarianza (ANCOVA) del consumo de los productos derivados del maíz, los cuales son interpretados para cada producto

Tabla 5. 17 Análisis de Covarianza del consumo de productos derivados del maíz

	Tortilla	Tacos	Tostadas	Antojitos	Tamales	Chilaquiles	Esquites	Atole
β_0	10.42*	7.05*	15.21*	46.03*	12.34*	21.27*	6.02*	1.04*
β_1	7.60*	16.29*	12.88*	35.37*	11.58*	25.93*	0.68	0.59
β_2	3.55*	3.09	-2.81	-0.50	1.19	-1.12	-1.55	0.63
β_3	-2.90*	-2.41	-4.08*	-11.99*	-4.50*	-2.66*	-0.99	0.03
β_{13}	-4.52*	-8.08*	-6.62*	-15.68*	-9.54*	-9.57*	-0.03	0.36
β_{23}	3.22	1.22	1.90	6.5352	1.55*	-0.45*	-0.68	0.28

* Diferencia significativa utilizando una prueba Tukey ($p < 0.05$)

Tortilla

La Ecuación (4) ajustada para tortilla muestra que el consumo para un hombre promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 0$) es 10.42 tortillas (β_0). La mujer promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 1$) consume 2.9 tortillas menos (β_3) que el hombre promedio, y esta reducción es estadísticamente

significativa. Además la Ecuación (4) para tortillas indica que el peso y la edad están significativamente y positivamente correlacionadas con el consumo (β_1 y β_2); y que los hombres de mayor peso comen más tortillas que las mujeres de mayor peso (β_{13}).

Tacos

La Ecuación (4) ajustada para tacos muestra que el consumo para un hombre promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 0$) es 7.05 g (β_0). Además la Ecuación (4) para *tacos* indica que el peso es significativamente y positivamente correlacionado con el consumo (β_1 y β_2); y que los hombres de mayor peso comen más que las mujeres de mayor peso (β_{13}).

Tostadas y antojitos

La Ecuación (4) ajustada para tostadas y antojitos muestra que el consumo para un hombre promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 0$) es 12.21 g y 46.03 g respectivamente (β_0). La mujer promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 1$) consume 4.08 g y 11.99 g menos (β_3) que un hombre promedio, y esta reducción es estadísticamente significativa. Además, la Ecuación (4) para tostadas y antojitos indica que el peso y la edad están significativamente y positivamente correlacionadas con el consumo (β_1 y β_2); y que los hombres pesados comen más que las mujeres pesadas (β_{13}).

Tamales y chilaquiles

La Ecuación (4) ajustada para tamales y esquites muestra que el consumo para un hombre promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 0$) es 12.34 g y 21.27 g respectivamente (β_0). La mujer promedio ($x_1 = 0, x_2 = 0, x_3 = 1$) consume 4.50 g y 2.66 g menos (β_3) que el hombre, y esta reducción es estadísticamente significativa; además, la Ecuación (4) para tamales y chilaquiles indican que el peso y edad están significativamente positivamente correlacionadas con el (β_1 y β_2); y que los hombres pesados comen más que las mujeres pesadas (β_{13}).

Esquites y atole

Ecuación (4) ajustada para esquites y elotes no mostró evidencia que exista una tendencia en el consumo dependiendo del género, del peso ni la edad.

5.1.3 PDF del peso de los habitantes de la ciudad de Veracruz

La Tabla 5.18 muestra la función de densidad de probabilidad (PDF) para el peso de la población de la ciudad de Veracruz. Los datos fueron clasificados por género, utilizando únicamente la población mayor de 14 años. Se encontró diferencia significativa entre el peso de hombres y mujeres, por lo que es importante realizar la distinción de género en los estudios que involucren el peso como en la evaluación de riesgos.

Tabla 5. 18 PDF del peso de la población de la ciudad de Veracruz

	Hombres (datos de entrada)	Hombres (Simulación)	Mujeres (datos de entrada)	Mujeres (Simulación)
Promedio (kg)	73.31	74.15	65.83	65.83
Mediana (kg)	73.00	72.64	66.00	64.71
Desviación Estándar	10.32	10.82	9.58	10.21
P95 (kg)	89.01	93.06	83.00	84.33
N=	724	10,000	817	10,000
Diferencia estadística	A	A	B	B

* Diferentes letras indican diferencia estadística en una prueba no-paramétrica Mann-Whitney con un $p=0.05$

Las Figuras 5.11 y 5.12 muestran la PDF del peso de la población de la ciudad de Veracruz para hombres y mujeres, respectivamente, Los datos se ajustaron a una distribución Gamma.

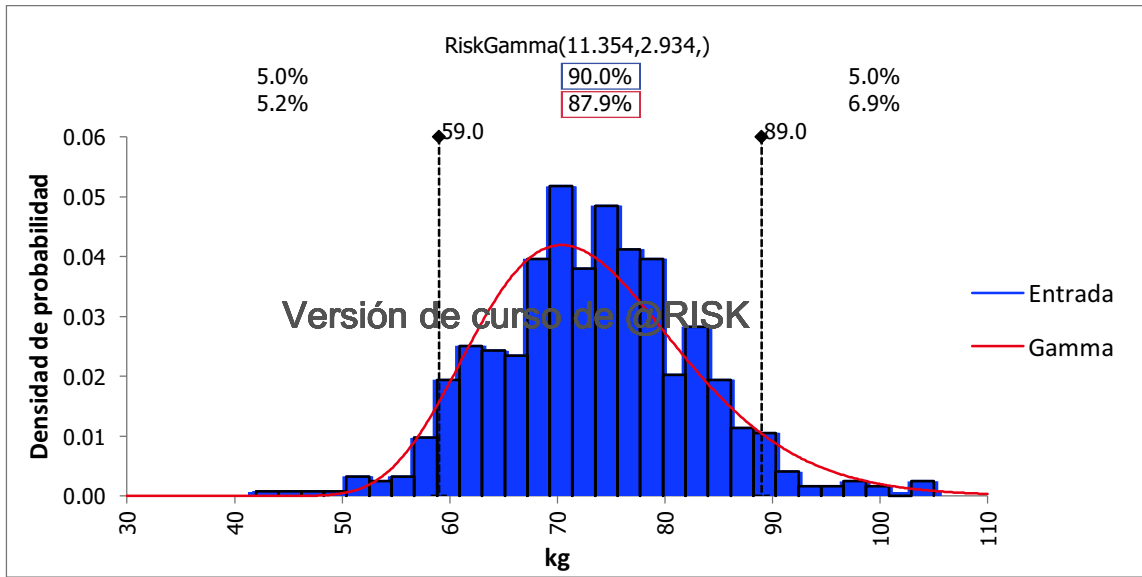


Figura 5. 11 PDF del peso de la población masculina en la ciudad de Veracruz, ajustada a una función Gamma

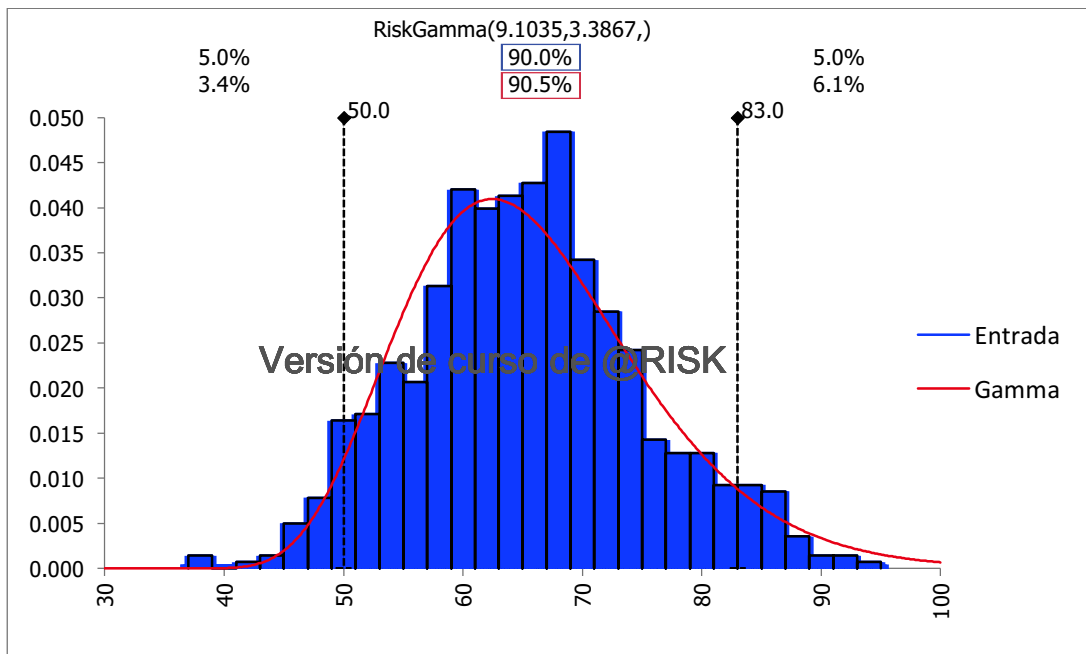


Figura 5. 12 PDF del peso de la población femenina en la ciudad de Veracruz, ajustada a una función Gamma

El peso medio de los hombres y mujeres de la población de la ciudad de Veracruz fue 73,31 kg y 65.83 kg, respectivamente. Datos similares se encuentran en lo reportado por la Cámara Nacional de la Industria del Vestido (CANAVE) en el estudio "¿Cuánto mide México? El Tamaño sí

importa ", quienes reportan un peso de 74.8 kg para los hombres y 68.7 kg para las mujeres. Los datos de la CANAIVE representan el promedio de la población en todo el país (no sólo en la ciudad de Veracruz). En paralelo a esta tesis, se llevó a cabo, un muestreo con distintas coordenadas aleatorias, para evaluar la ingesta de queso Oaxaca y fresco en la ciudad de Veracruz, mostrando resultados similares; 73.83 kg para los hombres y 65.52 kg para las mujeres, con un tamaño de muestra de 1106 personas. Esto demuestra la precisión del método de muestreo.

5.1.3.1 Resultados de la contaminación por micotoxinas en tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz

En esta sección se presentan los resultados del contenido de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) en tortilla de maíz de la ciudad de Veracruz para las temporadas Octubre 2013, Octubre 2014 y Febrero 2015. Los análisis se realizaron por cromatografía de líquidos de alta presión acoplada a un detector de fluorescencia.

5.1.3.2 Contenido de aflatoxinas en tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz

El contenido de aflatoxinas en tortilla de maíz para las temporadas Octubre 2013, Octubre 2014 y Octubre 2015 se presenta en las tablas 5.19, 5.20 y 5.21, respectivamente. Se muestran aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂, aflatoxinas totales (B₁ + B₂ + G₁ + G₂) utilizando los límites inferiores (AFt LI) y aflatoxinas totales utilizando límites superiores (AFt LS), así como la materia prima utilizada para elaborar las tortillas.

Tabla 5. 19 Contenido de aflatoxinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Octubre de 2013

Muestra	AFG2 (ng g ⁻¹)	AFG1 (ng g ⁻¹)	AFB2 (ng g ⁻¹)	AFB1 (ng g ⁻¹)	Dilución	AFt LI ng g ⁻¹	AFt LS ng g ⁻¹	Materia Prima
1	0.108	0.133	0.16	0.802	1	1.203	1.203	Harina Nixtamalizada
2	0.324	<LOQ	1.238	20.611	1	22.173	22.273	Maíz
3	0.132	0.118	< LOQ	0.248	1	0.516	0.548	Harina Nixtamalizada
4	0.098	< LOD	< LOQ	0.316	1	0.432	0.564	Harina Nixtamalizada
5	<LOD	< LOD	< LOQ	0.272	1	0.225	0.457	Harina Nixtamalizada
6	0.096	< LOD	< LOQ	0.312	1	0.426	0.558	Harina Nixtamalizada

7	< LOD	0.121	< LOQ	0.156	1	0.295	0.427	Harina Nixtamalizada
8	< LOD	< LOD	< LOQ	0.16	1	0.178	0.41	Harina Nixtamalizada
9	0.094	< LOD	< LOQ	0.327	1	0.439	0.571	Harina Nixtamalizada
10	< LOD	< LOD	< LOQ	0.062	1	0.08	0.312	Harina Nixtamalizada
11	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.03	0.3	Harina Nixtamalizada
12	< LOD	< LOD	< LOD	0.334	1	0.352	0.584	Harina Nixtamalizada
13	< LOD	< LOD	< LOD	0.184	1	0.202	0.434	Harina Nixtamalizada
14	< LOD	< LOD	< LOD	0.178	1	0.196	0.428	Harina Nixtamalizada

Continúa Tabla 5.19

15	<LOD	< LOD	< LOQ	0.113	1	0.131	0.363	Harina Nixtamalizada
16	< LOD	< LOD	< LOQ	0.049	1	0.067	0.299	Harina Nixtamalizada
17	< LOD	< LOD	< LOQ	0.062	1	0.08	0.312	Maíz
18	< LOD	< LOD	< LOD	0.205	1	0.223	0.455	Harina Nixtamalizada
19	0.075	< LOD	0.266	2.565	1	2.906	3.006	Harina Nixtamalizada
20	< LOD	< LOD	< LOQ	0.756	1	0.774	1.006	Harina Nixtamalizada
21	< LOD	< LOD	0.145	0.33	1	0.475	0.675	Harina Nixtamalizada
22	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1	0.03	0.3	Maíz
23	< LOD	< LOD	< LOD	0.178	1	0.196	0.428	Maíz
24	< LOD	< LOD	< LOD	0.182	1	0.2	0.432	Harina Nixtamalizada
25	0.149	< LOD	0.267	1.744	1	2.16	2.26	Harina Nixtamalizada
26	0.12	< LOD	0.163	0.344	1	0.627	0.727	Harina Nixtamalizada
27	< LOD	< LOD	< LOD	0.181	1	0.199	0.431	Harina Nixtamalizada

28	< LOD	< LOD	< LOD	0.172	1	0.19	0.422	Harina Nixtamalizada
29	< LOD	< LD	< LOQ	0.19	1	0.208	0.44	Harina Nixtamalizada
30	0.131	< LOD	0.195	0.757	1	1.083	1.183	Maíz
31	< LOD	< LOD	< LOD	0.173	1	0.191	0.423	Maíz
32	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1	0.03	0.3	Harina Nixtamalizada
33	< LOD	< LOD	< LOQ	0.258	1	0.276	0.508	Harina Nixtamalizada
34	0.127	< LOD	0.154	0.522	1	0.803	0.903	Harina Nixtamalizada
35	< LOD	< LOD	< LOD	0.197	1	0.215	0.447	Maíz

AFt LI ng g⁻¹ = Aflatoxinas totales del límite inferior **AFt LS ng g⁻¹** = Aflatoxinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

Continúa Tabla 5.19

36	< LOD	< LOD	< LOD	0.177	1	0.195	0.427	Maíz
37	< LOD	< LOD	< LOD	0.175	1	0.193	0.425	Harina Nixtamalizada
38	0.389	< LOD	1.027	12.888	1	14.304	14.404	Maíz
39	0.244	< LOD	0.423	7.369	1	8.036	8.136	Maíz
40	0.281	< LOD	0.498	9.635	1	10.414	10.514	Maíz

Tabla 5. 20 Contenido de aflatoxinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Octubre de 2014

Muestra	AFG2 (ng g ⁻¹)	AFG1 (ng g ⁻¹)	AFB2 (ng g ⁻¹)	AFB1 (ng g ⁻¹)	Dilución	AFt LI ng g ⁻¹	AFt LS ng g ⁻¹	Materia Prima
1	< LOD	< LOD	0.05	0.129	1	0.147	0.379	Harina nixtamalizada
2	< LOD	< LOD	0.05	0.072	1	0.09	0.322	Harina nixtamalizada
3	< LOD	< LOD	0.05	0.269	1	0.287	0.519	Maíz
4	< LOD	< LOD	0.05	0.235	1	0.253	0.485	Maíz

5	< LOD	< LOD	0.085	0.833	1	0.918	1.118	Harina nixtamalizada
6	< LOD	< LOD	0.05	0.085	1	0.103	0.335	Harina nixtamalizada
7	0.137	< LOD	0.05	0.247	1	0.402	0.534	Maíz
8	< LOD	< LOD	0.07	0.316	1	0.386	0.586	Harina nixtamalizada
9	< LOD	< LOD	0.05	0.121	1	0.139	0.371	Harina nixtamalizada
10	< LOD	< LOD	0.05	0.179	1	0.197	0.429	Maíz
11	0.16	< LOD	0.198	3.422	1	3.78	3.88	Maíz
12	0.116	< LOD	0.194	2.455	1	2.765	2.865	Harina nixtamalizada

Continúa Tabla 5.20

13	0.408	< LOD	0.05	0.41	1	0.841	0.973	Harina nixtamalizada
14	< LOD	< LOD	0.05	0.322	1	0.34	0.572	Maíz
15	< LOD	< LOD	0.05	0.261	1	0.279	0.511	Harina nixtamalizada
16	< LOD	< LOD	0.05	0.091	1	0.109	0.341	Harina nixtamalizada
17	< LOD	< LOD	0.05	0.093	1	0.111	0.343	Harina nixtamalizada
18	< LOD	< LOD	0.05	0.063	1	0.081	0.313	Harina nixtamalizada
19	< LOD	< LOD	0.05	0.191	1	0.209	0.441	Maíz
20	< LOD	< LOD	0.05	0.478	1	0.496	0.728	Maíz
21	< LOD	< LOD	0.05	0.107	1	0.125	0.357	Harina nixtamalizada
22	< LOD	< LOD	0.05	0.066	1	0.084	0.316	Harina nixtamalizada
23	< LOD	< LOD	0.05	0.074	1	0.092	0.324	Harina nixtamalizada
24	< LOD	< LOD	0.05	0.131	1	0.149	0.381	Maíz

25	0.56	0.65	1.5	14.39	10	17.1	17.1	Maíz
26	< LOD	< LOD	0.05	0.138	1	0.156	0.388	Harina nixtamalizada
27	< LOD	< LOD	0.05	0.184	1	0.202	0.434	Harina nixtamalizada
28	< LOD	< LOD	0.13	1.577	1	1.707	1.907	Maíz
29	< LOD	< LOD	0.05	0.436	1	0.454	0.686	Harina nixtamalizada
30	< LOD	< LOD	0.076	0.864	1	0.94	1.14	Maíz
31	< LOD	< LOD	0.108	0.452	1	0.56	0.76	Harina nixtamalizada
32	< LOD	< LOD	0.05	0.062	1	0.08	0.312	Maíz
33	< LOD	< LOD	0.05	0.082	1	0.1	0.332	Harina nixtamalizada

Continúa Tabla 5.20

34	0.138	< LOD	0.076	0.689	1	0.903	1.003	Harina nixtamalizada
35	<LOD	< LOD	0.05	0.053	1	0.071	0.303	Harina nixtamalizada
36	< LOD	< LOD	0.05	0.05	1	0.03	0.3	Harina nixtamalizada
37	< LOD	< LOD	0.05	0.05	1	0.03	0.3	Harina nixtamalizada
38	< LOD	< LOD	0.05	0.079	1	0.097	0.329	Harina nixtamalizada
39	< LOD	< LOD	0.05	0.108	1	0.126	0.358	Harina nixtamalizada
40	< LOD	0.1	0.05	0.1	1	0.03	0.35	Harina nixtamalizada

AFt LI ng g⁻¹ = Aflatoxinas totales del límite inferior **AFt LS ng g⁻¹** = Aflatoxinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

Tabla 5. 21 Contenido de aflatoxinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en Febrero de 2015

Muestra	AFG2 (ng g ⁻¹)	AFG1 (ng g ⁻¹)	AFB2 (ng g ⁻¹)	AFB1 (ng g ⁻¹)	Dilución	AFt LI ng g ⁻¹	AFt LS ng g ⁻¹	Materia Prima
---------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------	---------------------------	---------------------------	---------------

1	< LOD	< LOD	<LOQ	0.086	1	0.136	0.336	Harina nixtamalizada
2	0.105	< LOD	0.095	1.112	1	1.312	1.412	Harina nixtamalizada
3	< LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Maíz
4	< LOD	< LOD	< LOQ	0.094	1	0.144	0.344	Maíz
5	< LOD	< LOD	0.217	1.786	1	2.003	2.203	Harina nixtamalizada
6	< LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
7	< LOD	< LOD	< LOQ	0.058	1	0.108	0.308	Maíz
8	< LOD	< LOD	< LOQ	0.071	1	0.121	0.321	Harina nixtamalizada
9	< LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
10	< LOD	< LOD	<LOQ	0.075	1	0.125	0.325	Maíz

Continúa Tabla 5.21

11	<LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Maíz
12	< LOD	< LOD	< LOQ	0.106	1	0.156	0.356	Harina nixtamalizada
13	0.073	< LOD	0.098	0.985	1	1.156	1.256	Harina nixtamalizada
14	< LOD	< LOD	< LOQ	0.12	1	0.17	0.37	Maíz
15	< LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
16	< LOD	< LOD	< LOQ	0.099	1	0.149	0.349	Harina nixtamalizada
17	< LOD	< LOD	< LOQ	0.05	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
18	< LOD	< LOD	0.021	0.251	1	0.272	0.472	Harina nixtamalizada
19	< LOD	< LOD	0.093	0.228	1	0.321	0.521	Maíz
20	< LOD	< LOD	< LOQ	0.106	1	0.156	0.356	Maíz
21	0.043	< LOD	< LOQ	0.476	1	0.569	0.669	Harina nixtamalizada

22	< LOD	< LOD	< LOQ	0.142	1	0.192	0.392	Harina nixtamalizada
23	0.076	< LOD	0.091	1.546	1	1.713	1.813	Harina nixtamalizada
24	<LD	< LOD	< LOQ	0.132	1	0.182	0.382	Maíz
25	<LD	<LD	0.13	1.16	10	1.29	1.49	Maíz
26	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
27	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
28	< LOD	< LOD	0.019	0.118	1	0.137	0.337	Maíz
29	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
30	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.1	0.3	Maíz
31	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada

Continúa Tabla 5.21

32	< LOD	< LOD	<LOQ	0.14	1	0.19	0.39	Maíz
33	< LOD	< LOD	<LOQ	<LOQ	1	0.1	0.3	Harina nixtamalizada
34	< LOD	< LOD	<LOQ	0.12	1	0.17	0.37	Harina nixtamalizada
35	< LOD	< LOD	<LOQ	0.13	1	0.18	0.38	Harina nixtamalizada
36	< LOD	< LOD	<LOQ	0.12	1	0.17	0.37	Harina nixtamalizada
37	< LOD	< LOD	<LOQ	0.22	1	0.27	0.47	Harina nixtamalizada
38	< LOD	< LOD	<LOQ	0.13	1	0.18	0.38	Harina nixtamalizada
39	0.11	< LOD	0.12	1.01	1	1.24	1.34	Harina nixtamalizada
40	< LOD	< LOD	<LOQ	0.09	1	0.15	0.35	Harina nixtamalizada

AFt LI ng g⁻¹ = Aflatoxinas totales del límite inferior **AFt LS ng g⁻¹** = Aflatoxinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

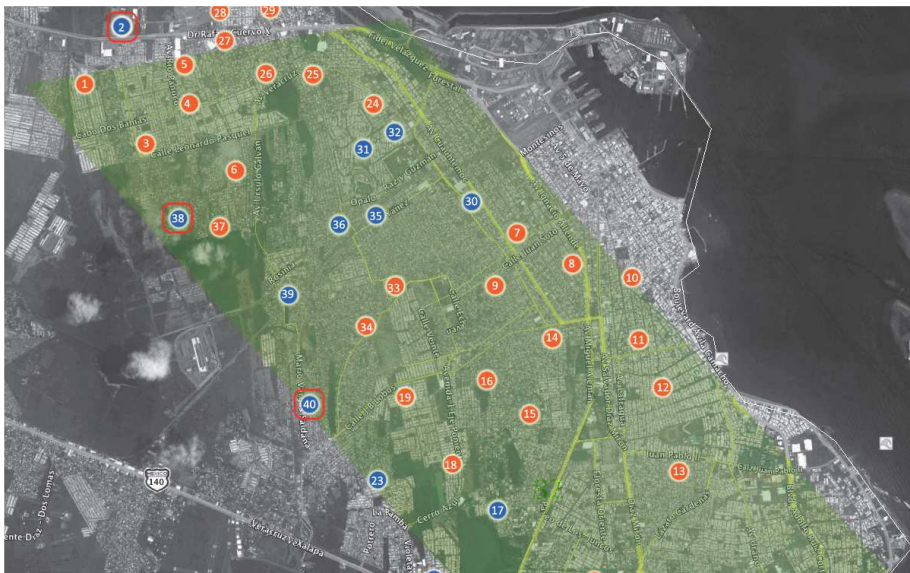
El contenido de Aflatoxinas por gramo de muestra se determinó mediante la Ecuación (8)

$$\frac{\mu g}{kg} = \left(\frac{ng}{g}\right) = \left(\frac{ng}{mL}\right) \left(\frac{50mL_{extracto}}{25g_{muestra}}\right) \left(\frac{1mL_{reconstituye}}{10mL_{dilución}}\right) (5mL_{dilución}) \dots (8)$$

En Octubre 2013, dos muestras (muestras 2 y 38) resultaron con valores por encima de lo establecido por la normatividad Mexicana (NOM-187-SSA1/SCFI-2002) y otras dos obtuvieron valores por arriba de la normatividad Europea $> 4 \mu g/kg$ (muestras 39 y 40), en la temporada 2014, únicamente una muestra presentó valores por arriba de la normatividad mexicana (muestra 26) y en la temporada Febrero 2015 ninguna mostró valores por encima de los valores establecidos por la normatividad Mexicana o Europea.

Una posible explicación de la alta concentración de aflatoxinas en las muestras de octubre es debido a las condiciones climáticas: humedad relativa (88.3 %), temperatura (27.31 °C) y precipitación pluvial (333 mm) para 2013 y para Octubre de 2014 humedad relativa (85.55 %) y temperatura (25.45 °C) precipitación pluvial (98.2 mm), las cuales son condiciones idóneas para el crecimiento de este tipo de hongos toxigénicos, mientras que en febrero 2015 hubo menor humedad relativa (81.9 %) temperatura (20.34 °C) y precipitación pluvial (1.60 mm).

Las muestras que presentaron mayor contaminación fueron colectadas en tortillerías que nixtamalizan *in situ*. En octubre 2013, las dos tortillerías más contaminadas estaban situadas en las afueras de la ciudad, en calles no pavimentadas; además, las tortillerías contaban con grandes áreas de ventilación, lo que facilita la contaminación de las materias primas por acción del polvo presente en corrientes de aire. La muestra con mayor contaminación en octubre 2014 fue colectada en un mercado en el centro de la ciudad, las condiciones de la tortillería eran: una habitación cerrada, el maíz era almacenado en condiciones de alta humedad y temperatura (debido al equipo utilizado para el proceso de elaboración de tortillas), condiciones que facilitan el crecimiento de hongos del género *Aspergillus*. El mapa de la ciudad de Veracruz con los puntos de mayor contaminación se muestra en la Figura 5.13.



Coordenadas
19°11'25"N 96°09'12"O

- 100 % maíz
- Nixtamalizan *in situ*
- Mayor contaminación

Figura 5. 13 Tortillerías con mayor contaminación de aflatoxinas, situadas en un mapa de la ciudad de Veracruz

Aunque únicamente cuatro muestras, del total analizado, rebasaron los límites establecidos, se encontró un alto porcentaje de muestras positivas para aflatoxinas, la AFB1, conocida como un contaminante mutagénico, cancerígeno y teratogénico (International Agency for the Research on Cancer (IARC), 1993), alcanzó hasta un 95 % de incidencia en Octubre 2014. Estos resultados contrastan con lo reportado por Castillo-Ureta *et al.*, (2011) donde el porcentaje de muestras contaminadas fue de 17 %. Se debe a que en el presente trabajo el contenido aflatoxinas se cuantificó con HPLC, Castillo-Ureta utilizó una prueba ELISA con un límite de cuantificación fue de 1.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para AFB1. Los límites de cuantificación utilizados en este estudio son presentados en la Tabla 5.22.

Tabla 5. 22 Límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de aflatoxinas analizadas por HPLC-FD

Aflatoxina	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
AFB1	0.012	0.05
AFB2	0.018	0.05
AFG1	0.04	0.1
AFG2	0.006	0.1

Como puede observarse, el límite de cuantificación para AFB1 es 0.05 $\mu\text{g kg}^{-1}$ lo cual es un orden de magnitud menor que el reportado por Castillo-Ureta *et al.*, (2011). Esto explicaría el alto porcentaje de muestras positivas en nuestro estudio en comparación con lo reportado por Castillo-Ureta.

5.1.3.3 Contenido de fumonisinas en tortillas de maíz en la ciudad de Veracruz

El contenido de fumonisinas en tortilla de maíz para las temporadas octubre 2013, octubre 2014 y febrero 2015 se presenta en las tablas 5.23, 5.24 y 5.25, respectivamente. Se reportan las fumonisinas B₁, B₂, fumonisinas totales (B₁ + B₂) utilizando los límites inferiores (Fum t LI) y fumonisinas totales utilizando límites superiores (Fum t LS), así como la materia prima utilizada para elaborar las tortillas.

Tabla 5. 23 Contenido de fumonisinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Octubre 2013

Muestra	FB1 (ng g ⁻¹)	FB2 (ng g ⁻¹)	Fum t LI ng g ⁻¹	Fum t LS ng g ⁻¹	Materia Prima
1	6.97	3.96	32.79	32.79	Harina Nixtamalizada
2	20.06	11.60	94.97	94.97	Maíz
3	7.87	4.29	36.48	36.48	Harina Nixtamalizada
4	32.92	17.13	150.15	150.15	Harina Nixtamalizada
5	8.51	3.16	34.99	34.99	Harina Nixtamalizada
6	7.87	4.29	36.47	36.47	Harina Nixtamalizada
7	7.52	3.96	34.45	34.45	Harina Nixtamalizada
8	7.44	4.02	34.35	34.35	Harina Nixtamalizada
9	30.55	14.43	134.92	134.92	Harina Nixtamalizada

10	6.43	3.13	28.68	28.68	Harina Nixtamalizada
11	<LOQ	2.02	6.44	15.05	Harina Nixtamalizada
12	<LOQ	< LOQ	0.51	17.10	Harina Nixtamalizada
13	3.803	< LOQ	11.53	19.51	Harina Nixtamalizada
14	10.71	5.41	48.37	48.37	Harina Nixtamalizada
15	14.98	8.99	71.90	71.90	Harina Nixtamalizada
16	10.61	5.74	49.02	49.02	Harina Nixtamalizada
17	10.40	5.73	48.38	48.38	Maíz
18	9.32	5.14	43.38	43.38	Harina Nixtamalizada
19	7.87	2.54	31.22	31.22	Harina Nixtamalizada
20	4.78	2.26	21.10	21.10	Harina Nixtamalizada

Continuación Tabla 5.23

21	47.12	23.87	212.98	212.982	Harina Nixtamalizada
22	< LOQ	< LOQ	0.51	17.1	Maíz
23	< LOQ	LOQ	0.51	17.1	Maíz
24	80.94	42.46	370.19	370.19	Harina Nixtamalizada
25	66.51	32.60	297.35	297.35	Harina Nixtamalizada
26	7.18	8.12	45.89	45.89	Harina Nixtamalizada
27	6.94	3.76	32.09	32.09	Harina Nixtamalizada
28	10.81	4.63	46.30	46.30	Harina Nixtamalizada
29	10.35	5.84	48.56	48.56	Harina Nixtamalizada
30	3.74	1.75	11.33	19.31	Maíz
31	4.37	1.93	13.22	21.20	Maíz
32	31.87	17.44	147.94	147.94	Harina Nixtamalizada
33	5.60	2.48	16.92	24.24	Harina Nixtamalizada
34	10.04	5.84	47.64	47.64	Harina Nixtamalizada
35	10.54	6.18	50.16	50.16	Maíz
36	9.83	5.81	46.93	46.93	Maíz
37	8.53	4.65	39.52	39.52	Harina Nixtamalizada
38	40.08	22.07	186.47	186.47	Maíz

39	4.53	2.20	13.72	21.70	Maíz
40	<LOD	<LOD	0	0.51	Maíz

FUM t LI ng g⁻¹ = fumonisinas totales límite inferior **FUM t LS ng g⁻¹** = fumonisinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

Tabla 5. 24 Contenido de fumonisinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Octubre 2014

Muestra	B1 (ng g ⁻¹)	B2 (ng g ⁻¹)	Fum t LI ng g ⁻¹	Fum t LS ng g ⁻¹	Materia Prima
1	33.67	17.45	153.38	153.38	Harina Nixtamalizada
2	28.68	15.07	131.25	131.25	Maíz
3	<LOD	<LOD	0.39	9.12	Harina Nixtamalizada
4	6.99	2.79	29.34	29.34	Harina Nixtamalizada
5	4.55	1.84	19.15	19.15	Harina Nixtamalizada
6	29.63	16.14	137.30	137.30	Harina Nixtamalizada
7	16.50	5.53	66.08	66.08	Harina Nixtamalizada
8	64.52	35.65	300.50	300.50	Harina Nixtamalizada
9	17.33	7.64	74.90	74.90	Harina Nixtamalizada
10	9.40	4.23	40.89	40.89	Harina Nixtamalizada
11	66.02	40.04	318.15	318.15	Harina Nixtamalizada
12	5.17	<LOD	15.50	15.62	Harina Nixtamalizada
13	119.36	56.18	526.61	526.61	Harina Nixtamalizada
14	16.38	5.86	66.71	66.71	Harina Nixtamalizada
15	49.51	36.20	257.11	257.11	Harina Nixtamalizada

16	42.33	22.28	193.81	193.81	Harina Nixtamalizada
17	16.82	8.97	77.37	77.37	Maíz
18	12.67	6.98	58.96	58.96	Harina Nixtamalizada
19	9.07	5.27	43.04	43.04	Harina Nixtamalizada
20	58.06	27.64	257.09	257.09	Harina Nixtamalizada
21	32.75	16.10	146.54	146.541	Harina Nixtamalizada
22	<LOD	<LOD	0	0.51	Maíz
23	<LOD	<LOD	0	0.51	Maíz
24	<LOQ	4.13	12.77	21.38	Harina Nixtamalizada
25	<LOQ	4.21	13.01	21.62	Harina Nixtamalizada
26	41.44	16.78	174.67	174.67	Harina Nixtamalizada
27	43.84	19.32	189.46	189.46	Harina Nixtamalizada

Continuación Tabla 5.24

28	48.11	24.81	218.76	218.76	Harina Nixtamalizada
29	61.82	30.17	275.99	275.99	Harina Nixtamalizada
30	81.78	43.23	375.02	375.02	Maíz
31	60.79	30.77	274.68	274.68	Maíz
32	49.11	24.14	219.76	219.76	Harina Nixtamalizada
33	45.16	22.19	202.05	202.05	Harina Nixtamalizada
34	65.23	35.66	302.67	302.67	Harina Nixtamalizada
35	46.95	24.33	213.85	213.85	Maíz
36	4.31	1.91	18.65	18.65	Maíz
37	<LOD	<LOD	0	0.51	Harina Nixtamalizada
38	<LOQ	1.73	5.57	14.18	Maíz
39	<LOD	<LOD	0	0.51	Maíz
40	<LOQ	3.88	12.04	20.65	Maíz

FUM t LI ng g⁻¹ = fumonisinas totales límite inferior **FUM t LS ng g⁻¹** = fumonisinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

Tabla 5. 25 Contenido de fumonisinas (ng g⁻¹) en tortillas colectadas en la ciudad de Veracruz en la temporada Febrero 2015

M	FB1	FB2	Fum t LI	Fum t LS	Materia
---	-----	-----	----------	----------	---------

	(ng g ⁻¹)	(ng g ⁻¹)	(ng g ⁻¹)	(ng g ⁻¹)	Prima
1	33.97	15.97	149.81	149.81	Harina nixtamalizada
2	8.47	4.01	37.42	37.42	Harina nixtamalizada
3	11.36	6.65	54.02	54.02	Maíz
4	46.01	23.38	208.16	208.16	Maíz
5	8.23	4.32	37.64	37.64	Harina nixtamalizada
6	4.32	<LQ	13.09	21.07	Harina nixtamalizada
7	13.24	7.87	63.32	63.32	Maíz
8	16.55	8.37	74.78	74.78	Harina nixtamalizada
9	7.56	4.17	35.18	35.18	Harina nixtamalizada
10	11.66	4.98	49.94	49.94	Maíz
11	32.16	16.95	147.34	147.34	Maíz
12	42.03	15.43	172.38	172.38	Harina nixtamalizada
13	41.82	22.65	193.40	193.40	Harina nixtamalizada

Continuación Tabla 5.25

14	83.07	43.07	378.41	378.41	Maíz
15	25.81	13.97	119.32	119.32	Harina nixtamalizada
16	21.43	10.71	96.44	96.44	Harina nixtamalizada
17	27.38	15.08	127.38	127.38	Harina nixtamalizada
18	18.48	5.61	72.26	72.26	Harina nixtamalizada
19	15.26	8.26	70.54	70.54	Maíz
20	11.50	5.49	50.96	50.96	Maíz
21	17.83	9.16	80.96	80.96	Harina nixtamalizada
22	150.29	79.46	689.26	689.26	Harina nixtamalizada
23	5.81	3.07	26.64	26.64	Harina nixtamalizada
24	21.49	11.37	98.58	98.58	Maíz
25	7.68	3.01	32.08	32.08	Maíz
26	4.59	2.34	20.77	20.77	Harina nixtamalizada
27	<LOQ	1.90	6.10	14.71	Harina nixtamalizada
28	<LOQ	2.20	6.98	15.59	Maíz
29	<LOQ	1.84	5.90	14.51	Harina nixtamalizada
30	<LOD	<LOD	0	0.51	Maíz

31	27.32	14.08	124.21	124.21	Harina nixtamalizada
32	33.51	16.33	149.52	149.52	Maíz
33	22.33	11.77	102.30	102.30	Harina nixtamalizada
34	38.96	19.74	176.09	176.09	Harina nixtamalizada
35	23.37	12.33	107.10	107.10	Harina nixtamalizada
36	16.38	8.52	74.69	74.69	Harina nixtamalizada
37	12.22	6.37	55.79	55.79	Harina nixtamalizada
38	<LOQ	2.51	7.91	16.52	Harina nixtamalizada
39	<LOQ	2.22	7.04	15.65	Harina nixtamalizada
40	<LOQ	2.18	6.92	15.53	Harina nixtamalizada

FUM t LI ng g⁻¹ = fumonisinas totales límite inferior **FUM t LS ng g⁻¹** = fumonisinas totales del límite superior. LOD= Límite de detección; LOQ= Límite de cuantificación

El contenido de fumonisinas por gramo de muestra se determinó mediante la ecuación (9) :

$$\frac{\mu g}{kg} = \left(\frac{ng}{g} \right) = \left(\frac{ng}{mL} \right) \left(\frac{50mL_{extracto}}{25gr_{muestra}} \right) \left(\frac{3mL_{reconstituye}}{10mL_{dilución}} \right) (5mL) \dots(9)$$

El contenido de fumonisinas totales en las muestras analizadas fue menor a los límites estipulados por la normatividad en Estados Unidos para alimentos de consumo humano (2000-4000 µg/kg) y en la Unión Europea (1000 µg kg⁻¹) (FAO, 2003). La Tabla 5.26 muestra los límites de detección y cuantificación utilizados en el análisis de fumonisinas.

Tabla 5. 26 Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) para fumonisinas analizadas por HPLC-FD

Fumonisina	LOD (µg kg ⁻¹)	LOQ (µg kg ⁻¹)
FB1	0.13	3
FB2	0.04	2.7

Aunque todas las muestras presentaran contaminación inferior a los límites establecidos, los porcentajes de incidencia de fumonisinas fueron de 80 %, 95 % y 90 % para octubre 2013, octubre 2014 y febrero 2015, respectivamente. Por lo que de la misma manera que en las aflatoxinas, es importante realizar la evaluación de la exposición al riesgo.

5.1.4 PDF de la contaminación de micotoxinas en tortillas de maíz

La función de densidad de probabilidad de la contaminación de micotoxinas en tortilla de maíz fue generada para cada mes analizado. La PDF se construyó a partir de los datos de la cota superior por ser la condición más protectora.

5.1.4.1 PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortillas de maíz

La Tabla 5.27 muestra los parámetros de la PDF de aflatoxinas totales en tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz para las temporadas analizadas.

Tabla 5. 27 PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortilla de maíz en la ciudad de Veracruz

Parámetro	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media $\mu\text{g kg}^{-1}$	1.96	1.09	0.54
Mediana $\mu\text{g kg}^{-1}$	0.45	0.39	0.35
Desviación estándar $\mu\text{g kg}^{-1}$	4.39	2.69	0.47
Percentil 95 $\mu\text{g kg}$	10.51	2.87	1.49
Diferencia Significativa	A	AB	B
n	40	40	40

* Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con $p=0.05$

La Tabla 5.27 muestra la diferencia observada entre las tres temporadas analizadas, siendo Febrero 2015 la que presentó la menor contaminación. El percentil 95 de la temporada Octubre 2013 fue de $10.51 \mu\text{g kg}^{-1}$, esto debido a que en esta sesión, cuatro muestras presentaron valores por encima de $8 \mu\text{g kg}^{-1}$ llegando a presentarse hasta $22 \mu\text{g kg}^{-1}$. En la Tabla 5.28 se muestran los parámetros de la PDF de la contaminación, eliminando los datos con mayor contaminación para buscar cierta tendencia sin la presencia de estos valores.

Tabla 5. 28 PDF de la contaminación de aflatoxinas en tortilla de maíz en la ciudad de Veracruz sin los valores de mayor contaminación.

Parámetro	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media $\mu\text{g kg}^{-1}$	0.64	0.68	0.54
Mediana $\mu\text{g kg}^{-1}$	0.43	0.39	0.35
Desviación estándar $\mu\text{g kg}^{-1}$	0.55	0.72	0.47
Percentil 95 $\mu\text{g kg}^{-1}$	2.26	2.87	1.49
Diferencia Significativa	A	A	A
n	36	39	40

* Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con $p=0.05$

Eliminando los datos con mayor contaminación (cuatro para Octubre 2013 y uno para Octubre 2014) desaparece la diferencia significativa entre las tres temporadas, esto podría significar que la diferencia entre las tres temporadas no es únicamente debido al efecto de la temporada sino es a malas prácticas en la elaboración de tortillas es recomendable realizar un análisis en la materia prima utilizada para la elaboración de tortillas en la ciudad de Veracruz.

5.1.4.2 PDF de la contaminación de fumonisinas en tortillas de maíz

La Tabla 5.29 muestra los parámetros de la PDF del contenido de fumonisinas totales en tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz en las temporadas Octubre 2013, Octubre 2014 y Febrero 2015.

Tabla 5. 29 Parámetros de la PDF de la contaminación de fumonisinas en tortilla de maíz para las temporadas analizadas

Parámetro	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	64.21	136.61	96.53
Mediana ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	45.79	94.69	67.95
Desviación Estándar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	60.01	136.61	93.16
Percentil 95 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	183.97	409.25	282.47
Diferencia significativa	A	A	A

Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un $p=0.05$

Como puede observarse, incluso el valor del percentil 95 esta por debajo del límite establecidos por la Organización Mundial de la Salud de $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$. No se encontró diferencia significativa entre las 3 temporadas analizadas. Aunque el contenido de fumonisinas en todas las muestras analizadas presentó niveles por debajo de la normatividad, es importante continuar con estos estudios realizando una evaluación de riesgo, debido al alto consumo de tortillas de maíz en la Ciudad de Veracruz (142.85 g d^{-1}) y la alta incidencia de muestras contaminadas (95 % para febrero de 2015).

5.1.5 Ingesta diaria estimada (EDI) de micotoxinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz

La ingesta diaria de micotoxinas se estimó para consumidores y para la población total. Se realizó una comparación por temporada y por género.

5.1.5.1 EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz

La ingesta diaria de aflatoxinas fue calculada utilizando el método Monte Carlo y 10,000 iteraciones. Los parámetros son mostrados en la Tabla 5.30.

Tabla 5. 30 EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla en la ciudad de Veracruz

Parámetro	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media ($\text{ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$)	3.340	1.878	0.940
Mediana ($\text{ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$)	1.860	1.144	0.677
Desviación estándar	4.400	2.280	0.927
Percentil 95 ($\text{ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$)	11.47	6.094	2.589
Población en riesgo (%)	69.7	54.9	32.6
Diferencia Significativa	a	b	c

Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un $p=0.05$

La ingesta media estimada para aflatoxinas fue de 3.340 y 1.878 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$ para las temporadas Octubre de 2013 y 2014, la cual es más alta que la recomendación de la JCFA de 1 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$. El promedio para la temporada de Febrero de 2014 estuvo apenas por debajo de los valores recomendados. El análisis estadístico muestra diferencia significativa entre las tres temporadas analizadas, siendo Octubre 2014 la que presentó un mayor riesgo para la población, ya que se puede estimar que un 5 % de la población consume más de 11.47 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$. Los porcentajes de la población que consumen más de 1 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$) que es el valor recomendados por la JCFA son 69.7 %, 54.9 % y 32.6 % para Octubre 2013, Octubre 2014 y Febrero 2015. Al ser mayores al 5 %, se puede decir que la población podría estar en riesgo por consumo de aflatoxinas presentes en la tortilla de maíz.

De la misma manera que en el análisis de la contaminación de tortillas, se estimó la PDF de la ingesta diaria de aflatoxinas por consumo de tortilla de maíz sin los valores de mayor contaminación. En los parámetros de la PDF se descartaron los valores con mayor contaminación y son presentados en la Tabla 5.31.

Tabla 5. 31 EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla en la Ciudad de Veracruz sin los datos de mayor contaminación

Parámetro	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media ($\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$)	1.096	1.170	0.940
Mediana ($\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$)	0.765	0.801	0.677
Desviación estándar ($\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$)	1.102	1.234	0.927
Percentil 95 ($\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$)	3.175	3.454	2.589
Población en riesgo (%)	38.4	40.3	32.6
Diferencia Significativa	A	A	A

Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un $p=0.05$

Descartando las cuatro muestras con la mayor contaminación de aflatoxinas en las temporadas Octubre de 2013 y Octubre de 2014, la media de sus PDF continúan por arriba de los valores recomendados por la JECFA. En cuanto al percentil 95, reduce de 11.57 a 3.175 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$ para Octubre 2013 y de 6.094 a 3.454 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc d}^{-1}$ en Octubre 2014. Aunque la desviación estándar disminuye, la diferencia entre las tres temporadas no es significativa.

Tabla 5. 32 EDI de aflatoxinas para los consumidores de tortilla en la ciudad de Veracruz. Comparación entre hombres y mujeres

Parámetro	Hombres			Mujeres		
	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015	Octubre 2013	Octubre 2014	Febrero 2015
Media (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	3.738	2.089	1.053	2.829	1.594	0.801
Mediana (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	2.122	1.282	0.771	1.597	0.788	0.402
Desviación estándar (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	4.786	2.460	0.989	3.810	2.352	1.147
Percentil 95 (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	12.601	6.606	2.859	9.667	5.774	2.894
Población en riesgo (%)	73.1	60.2	38.2	65.5	43.5	24.7
Diferencia Significativa	A	A	A	B	B	B

Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un p=0.05

Se puede observar un mayor riesgo en el grupo de hombres y en mujeres, esto debido a que la ingesta de maíz para hombres es 66 % mayor que la de mujeres lo cual tiene un efecto mayor al calcular la Ingesta diaria estimada.

5.1.5.2 Ingesta diaria estimada fumonisinas para los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz

Los parámetros de la ingesta diaria estimada (EDI) del consumo de fumonisinas proveniente de tortilla de maíz se muestra en la Tabla 5.33.

Tabla 5. 33 EDI de fumonisinas en tortilla de maíz para los consumidores de la ciudad de Veracruz

Parámetro	Octubre	Octubre	Febrero
-----------	---------	---------	---------

	2013	2014	2015
Media (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	112.15	236.18	168.50
Mediana (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	56.05	118.81	84.69
Desviación estándar (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	161.87	340.03	245.74
Percentil 95 (ng kg ⁻¹ pc d ⁻¹)	402.20	929.21	593.19
Población en riesgo (%)	< 0.1 %	0.5 %	0.2 %
Diferencia Significativa	A	B	C

Diferentes letras indican diferencia significativa en una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un $p=0.05$

El análisis estadístico mostró diferencia significativa entre las tres temporadas analizadas, siendo Octubre 2014 la más contaminada; sin embargo, aún los valores de contaminación en el percentil 95 obtuvo valores por debajo del establecido por las normas internacionales (2000 ng kg⁻¹ pc d⁻¹).

5.1.6 Estimación de la Ingesta Diaria Aceptada

De acuerdo a los cálculos estimados en la sección 5.1.6.1, la población que consume más de la ingesta recomendada por la JEFCA, (2001) de aflatoxinas (1 ng kg⁻¹ d⁻¹) resultó entre el 30 y 60 %, dependiendo del sector de la población y de la temporada. Estos datos no corresponden a la población con cáncer en la ciudad de Veracruz, por lo cual, tomando en cuenta la distribución de la ingesta diaria estimada (EDI) de aflatoxinas y el porcentaje de población con tumores cancerígenos, se estimó una ADI que representaría una ingesta límite de acuerdo a la problemática actual de la Ciudad de Veracruz.

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en conjunto con el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) afirma que en 2015 las muertes causadas por tumores cancerígenos en México fueron cercanas a 80 mil personas, de los cuales el 57.7 % es asociado a carcinomas relacionados con consumo de aflatoxinas (tumores en órganos digestivos, hematopoyéticos y tejido linfático) (INEGI, 2016). Según la secretaría de Salud, la tasa de mortalidad a causa de dichos tumores es de 6.4, en personas mayores a 20 años (SSA, 2013); lo que representa que, a nivel nacional, el 1 % de la población padece algún carcinoma relacionado al consumo de aflatoxinas, tomando en cuenta únicamente a la población mayor de 20 años.

Considerando que el 1 % de la población esta en riesgo por consumo de aflatoxinas, y que ese riesgo es el mismo a nivel nacional, se estimó ingesta diaria de aflatoxinas en el percentil 99 para la

población de la ciudad de Veracruz, el cual correspondió a un consumo de aflatoxinas de $31 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc d}^{-1}$.

Según la Ecuación 3, una persona de 70 kg superaría esta ADI con un consumo de maíz mayor a 1084 g d^{-1} con la contaminación de octubre de 2013, 1163 g d^{-1} con la contaminación de octubre 2014 y de 2584 g d^{-1} para Febrero 2015, bajo un enfoque determinista.

5.2 Resultados del efecto de la nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas y fumonisinas

Se evaluó el efecto de la concentración de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y tiempo de cocción sobre la cinéticas de degradación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) durante la nixtamalización. Los resultados se discuten a continuación.

5.2.1 Evaluación de las condiciones de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas en el grano de maíz

Los resultados del estudio del efecto del tratamiento sobre la concentración de aflatoxinas se muestran en las Tablas 5.34

Tabla 5. 34 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas totales (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) en maíz

Tratamiento	Aft ($\mu\text{g/kg}$) en maíz en diferentes tiempos de cocción y reposo durante la nixtamalización						
	15 min ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	30 min ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	45 min ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	5 h ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	10 h ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	15 h ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Lavado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
25 °C / 1 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	381.5 ± 2.1	405 ± 1.4	399 ± 1.4	388 ± 6	382 ± 11.3	382 ± 19.1	381 ± 21.2
T ebullición / 0 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	395.5 ± 3.2	390 ± 8.5	395 ± 14.1	381.5 ± 13.4	369 ± 12.7	346 ± 29.7	366 ± 22.6
T ebullición / 0.5 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	375 ± 4.4	335.5 ± 12.1	353 ± 10.4	378 ± 8.6	367 ± 4.2	373 ± 10.4	293.5 ± 7
T ebullición / 1 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	364 ± 4.49	32 ± 9.2	298.5 ± 7.8	297.5 ± 17.7	280 ± 18.4	280.5 ± 14.8	89.5 ± 9.2
T ebullición / 3 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	391 ± 12.7	322 ± 11.3	306.5 ± 3.5	274 ± 2.8	245 ± 7.1	241.5 ± 16	41.5 ± 9.2

Debido al cambio de un orden de magnitud en la disminución del contenido de aflatoxinas en el grano de maíz (de $400 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $40 \mu\text{g kg}^{-1}$), es necesario estandarizar la varianza calculando el logaritmo natural a cada valor de concentración. Los resultados se observan en la Figura 5.14.

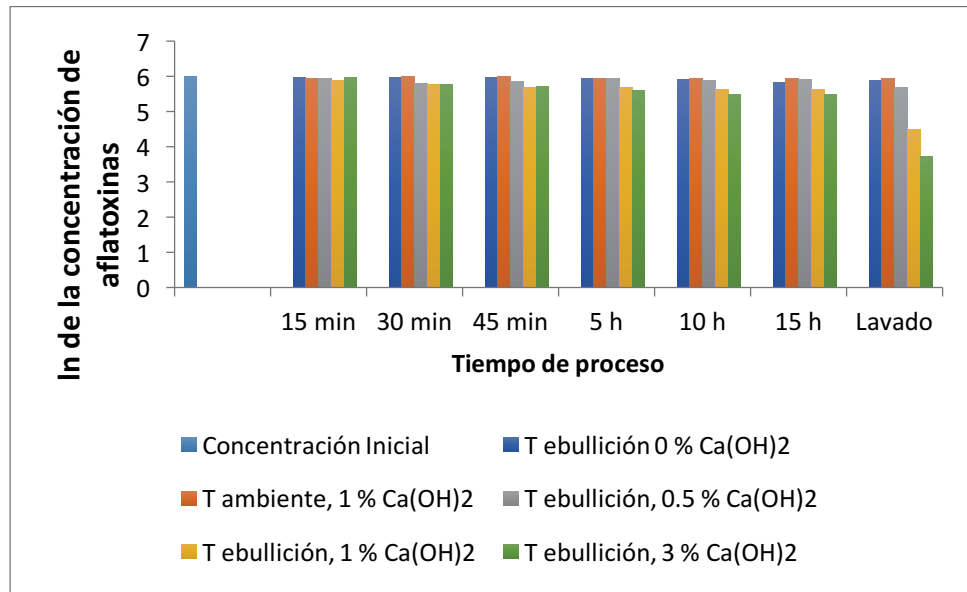


Figura 5.14 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en el grano de maíz con varianza estandarizada

Se determinó el valor crítico y los tratamientos fueron comparados mediante un análisis de varianza aplicando una prueba Tukey con un intervalo de confianza del 95 %. Los resultados se muestran en la Tabla 5.35.

Tabla 5.35 Análisis de varianza del logaritmo natural de la concentración de aflatoxinas en el grano de maíz

F. DE V.	Grados de Libertad	SS	CM	F	Probabilidad
MEDIA	1	0.23068E+04	0.23068E+04	0.79183E+06	0.00E+00
TRATAMIENTO	34	0.13381E+02	0.39357E+00	0.13510E+03	0.00E+00
RESIDUAL	35	0.10196E+00	0.29132E-02		
TOTAL	70	0.23202E+04			

*Se utilizo una prueba Tukey con un intervalo de confianza del 95%

$$\text{Valor crítico} = (\sqrt{CMR}) \left(\sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{2}} \right) \left(\sqrt{\frac{q}{2}} \right)$$

$$q_t = 5.8891$$

Valor Crítico = 0.22476

Si la diferencia de las medias entre los tratamientos es mayor al valor crítico (0.22476) las medias de los tratamientos serán significativamente diferentes.

Como puede observarse no hubo disminución en el contenido de aflatoxinas en los tratamientos que no utilizaron hidróxido de calcio o temperatura de ebullición. La mayor reducción se puede observar durante el lavado para los tratamientos que utilizan y 1 y 3 % de Ca(OH)_2 a temperatura de ebullición, siendo la concentración de 3% de Ca(OH)_2 la que tuvo una concentración significativamente menor de aflatoxinas, esto es atribuido al desprendimiento del pericarpio resultado del proceso como se puede observar en las Figura 5.15. Los análisis se repitieron con un nuevo lote de maíz, eliminando el tratamiento con 0.5 % de Ca(OH)_2 , debido a que el maíz nixtamalizado con 3 % de Ca(OH)_2 no obtuvo las características sensoriales deseadas se disminuyó el contenido de Ca(OH)_2 de 3 a 2 %.

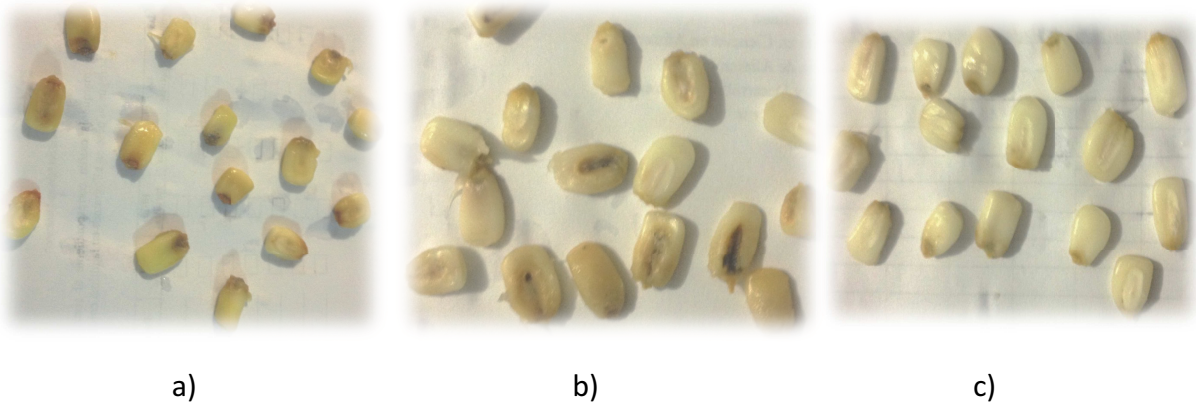


Figura 5. 15 Efecto de la concentración de hidróxido de calcio sobre el aspecto de los granos de maíz nixtamalizados a temperatura de ebullición a) 0.5 % Ca(OH)_2 b) 1.0 % c) 3 %

En la Tabla 5.36 se muestra el resultado del efecto de la tratamiento sobre la disminución en el contenido de aflatoxinas totales ($\mu\text{g/kg}$) durante la nixtamalización en el grano de maíz, nejayote y agua de lavado, analizado por cromatografía líquida de alta presión. Las Tablas 5.37, 5.38, 5.39 y 5.40 muestra el contenido individual de las aflatoxina B_1 , B_2 , G_1 y G_2 , respectivamente.

Tabla 5. 36 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxinas totales (B₁, B₂, G₁, G₂) en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de AFt es de 80.5 µg kg⁻¹

Tratamiento	AFt (µg/kg) durante la nixtamalización					
	Muestra	15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
T ebullición / 0 % Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	53.51	57.92	62.38
	Nejayote	--	--	0.356	3.539	--
	Lavado	--	--	--	--	0.124
1 % Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	12.14	34.91	38.91
	Nejayote	--	--	2.631	0.394	--
	Lavado	--	--	--	--	0.624
T ebullición / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	46.55	58.9	60.73	27.46	7.15
	Nejayote	--	--	28.03	21.41	--
	Lavado	--	--	--	--	19.98
T ebullición / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	60.08	53.1	47.02	34.54	0.458
	Nejayote	--	--	19.12	19.91	--
	Lavado	--	--	--	--	7.34

Tabla 5. 37 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina B₁ en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de AFB₁ es de 64.42 µg kg⁻¹

Tratamiento	AFB ₁ (µg/kg) durante la nixtamalización					
	Muestra	15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / sin Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	52.02	51.7	57.07
	Nejayote	--	--	0.30	2.39	--
	Lavado	--	--	--	--	0.11
1 % Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	10.67	34.64	33.67
	Nejayote	--	--	2.10	0.33	--
	Lavado	--	--	--	--	0.38
100 °C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	42.25	51.23	56.66	24.43	6.23
	Nejayote	--	--	24.6	21.11	--
	Lavado	--	--	--	--	17.02
100 °C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	55.02	49.7	42.78	32.56	0.32
	Nejayote	--	--	5.9	18.8	--
	Lavado	--	--	--	--	6.69

Tabla 5. 38 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina B₂ en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFB₂ es de 2.67 µg kg⁻¹

Tratamiento	AFB ₂ (µg/kg) durante la nixtamalización					
	Muestra	15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / 0 % Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	1.49	2.98	3.31
	Nejayote	--	--	<LD	0.311	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
1 % Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	1.1	0.11	2.07
	Nejayote	--	--	0.281	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	0.09
100 ° C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	2.59	5.49	2.66	1.82	0.47
	Nejayote	--	--	2.7	0.11	--
	Lavado	--	--	--	--	1.69
100 ° C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	2.84	2.39	2.31	0.73	<LOD
	Nejayote	--	--	0.96	0.88	--
	Lavado	--	--	--	--	0.4

Tabla 5. 39 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina G₁ en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFG₁ es de 0.787 µg kg⁻¹

Tratamiento	AFG ₁ (µg/kg) durante la nixtamalización					
	Muestra	15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / 0 % Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	<LOD	0.561	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
1 % Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	0.97
	Nejayote	--	--	0.127	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	0.074
100 ° C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	0.69	0.67	<LOD	0.74	<LD
	Nejayote	--	--	<LOD	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	0.61
100 ° C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	0.68	0.58	0.94	1.06	<LOD
	Nejayote	--	--	6.58	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD

Tabla 5. 40 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de aflatoxina G₂ en maíz, nejayote y agua de lavado cuando el contenido inicial de AFG₂ es de 12.61 µg/kg

Tratamiento	Muestra	15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / 0 % Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	<LD	2.39	2
	Nejayote	--	--	<LD	0.277	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
1 % Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	0.37	0.16	2.2
	Nejayote	--	--	0.122	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
100 °C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	1.02	1.51	1.41	0.47	0.45
	Nejayote	--	--	0.73	0.19	--
	Lavado	--	--	--	--	0.66
100 °C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	1.54	0.43	0.99	0.19	<LOD
	Nejayote	--	--	5.68	0.23	--
	Lavado	--	--	--	--	0.25

Después de los diferentes tratamientos, se observó una disminución en el contenido de aflatoxinas en el grano de maíz, la cual varió dependiendo de las variables del proceso. Con el tratamiento que no incluía Ca(OH)₂, hubo una disminución del 22 % en el contenido de aflatoxinas, el cual se pudo deber al efecto del tratamiento térmico, lo cual concuerda con diversos autores que reportan que existe una reducción parcial de aflatoxinas (15-50 %) en muestras con alta contaminación al ser sometidas a temperaturas de 100 ° C (Trager y Stoloff, 1967; Doyle y Marth 1978; Rustom, 1997; Méndez-Albores *et al.* 2004; Hwang y Lee 2006; Marín *et al.* 2012; Mohamadi Sani *et al.* 2012). En el tratamiento a 25 °C y 1 % Ca(OH)₂, la disminución fue del 50 %, esto es atribuible al efecto del medio básico en la contenido de aflatoxinas (Doyle y Marth, 1978; Gimeno, 2001) ya que al abrirse el anillo de lactona de la AF se pierde la fluorescencia y ya no se detectan y luego con un cambio de pH se vuelve a restablecer la AFB₁ (Moctezuma *et al.*, 2015) además de la solubilidad que las aflatoxinas pueden presentar en H₂O (García *et al.* 1994).

Los tratamientos que incluían $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y temperatura de ebullición, presentaron una disminución mayor al 90 %, estos resultados confirman lo reportado por Anguiano-Ruvalcaba *et al.*, 2005; Dombink-Kurtzman *et al.*, 2000; Méndez-Albores *et al.*, 2004; Elias-Orozco *et al.*, 2002. Durante el lavado se da la mayor disminución en el contenido de aflatoxinas en el grano de maíz, esto se atribuye al desprendimiento del pericarpio, que es donde se encuentra la mayor cantidad de aflatoxinas en el grano de maíz, y al ser desprendido, existe una migración del contenido de aflatoxinas, desde el grano hacia el nejayote.

5.2.2 Evaluación del efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas en el grano de maíz

Los resultados del estudio del efecto del tratamiento sobre la concentración de fumonisinas se observan en la Figura 5.16.

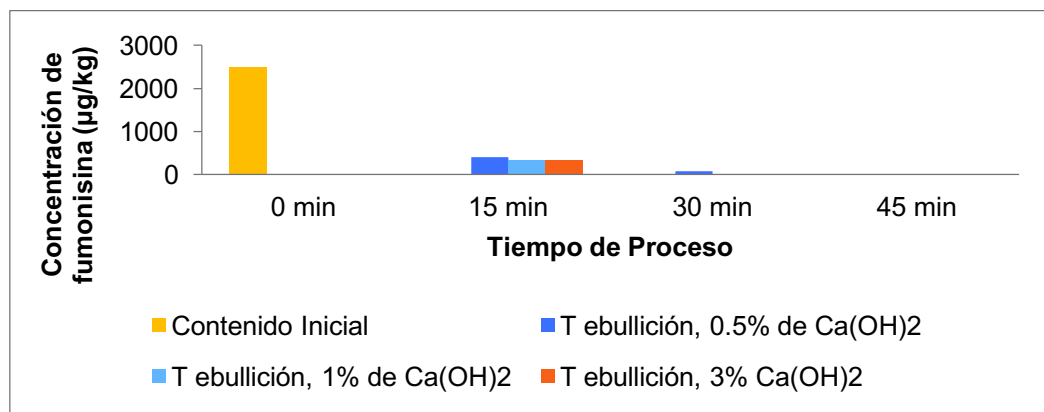


Figura 5.16 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas $\mu\text{g kg}^{-1}$ en el grano de maíz

La concentración inicial de fumonisinas en el grano de maíz fue de $2500 \mu\text{g kg}^{-1}$ y disminuyó hasta una concentración menor a $150 \mu\text{g kg}^{-1}$ (límite de detección del equipo utilizado). La disminución es atribuida a la solubilidad de las fumonisinas en agua, ya que al analizar el contenido de fumonisinas en nejayote el resultado fue positivo; sin embargo, algunos reportes indican presencia de fumonisinas en masa, maíz y harina nixtamalizado, esto puede ser atribuido a una mala calidad en el procesamiento, o a la no eliminación del nejayote al final del proceso de nixtamalización. Al igual que en el caso de las aflatoxinas se seleccionó un nuevo lote de maíz contaminado y se realizó nuevamente 4 diferentes procedimientos de nixtamalización, esta vez analizando en maíz y nejayote.

Los resultados fueron analizados por HPLC. Los resultados se muestran en las tablas 5.41, 5.42 y 5.43.

Tabla 5. 41 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisinas Totales (FB₁, FB₂) en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum t es de 213.73 µg/kg

Tratamiento		Contenido de Fum t (µg kg ⁻¹) durante la nixtamalización				
		15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / sin Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	19.55
	Nejayote	--	--	81.22	22.83	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	16.19	14.75	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
100 °C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	275.04	113.12	24.17	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	13.27	28.92	--
	Lavado	--	--	--	--	11.57
100 °C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	188.06	14.82	12.35	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	<LOD	54.75	--
	Lavado	--	--	--	--	9.14

Tabla 5. 42 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisina B₁ en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum B₁ es de 197.4 µg/kg

Tratamiento		Contenido de Fum B ₁ (µg kg ⁻¹) durante la nixtamalización				
		15 min (µg kg ⁻¹)	30 min (µg kg ⁻¹)	45 min (µg kg ⁻¹)	16 h (µg kg ⁻¹)	Lavado (µg kg ⁻¹)
100 ° C / sin Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	19.55
	Nejayote	--	--	74.43	22.83	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	16.19	14.75	--

°C)	Lavado	--	--	--	--	<LOD
100 °C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	258.96	107.54	22.42	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	13.27	28.92	--
	Lavado	--	--	--	--	11.57
100 °C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	177.02	14.82	12.35	<LD	<LD
	Nejayote	--	--	<LD	54.75	--
	Lavado	--	--	--	--	9.14

Tabla 5. 43 Efecto de las variables del proceso de nixtamalización sobre la concentración de fumonisina B₂ en maíz, nejayote y agua de lavado, cuando el contenido inicial de Fum B₂ es de 16.3 µg/kg

Tratamiento		Contenido de Fum B ₂ (µg kg ⁻¹) durante la nixtamalización				
		15 min (µg/kg)	30 min (µg/kg)	45 min (µg/kg)	16 h (µg/kg)	Lavado (µg/kg)
100 °C / sin Ca(OH) ₂	Maíz	--	--	<LOD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	6.79	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
Ca(OH) ₂ / T amb (25 °C)	Maíz	--	--	<LD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	<LD	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
100 °C / 1 % Ca(OH) ₂	Maíz	16.07	5.58	1.76	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	<LOD	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD
100 °C / 2 % Ca(OH) ₂	Maíz	11.04	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Nejayote	--	--	<LOD	<LOD	--
	Lavado	--	--	--	--	<LOD

El contenido de fumonisinas disminuyó en un 90 % para los tratamientos testigo (sin Ca(OH)₂ o sin tratamiento térmico a temperatura de ebullición) y para los tratamientos de nixtamalización disminuyó hasta valores por debajo del límite de detección. El contenido de fumonisinas en nejayote presentó valores en un 10 % del inicial en maíz, por lo que se puede asegurar que durante el proceso de nixtamalización existe una degradación de fumonisinas.

6 CONCLUSIONES

Se evaluó la función de densidad de probabilidad (PDF) del contenido de micotoxinas en tortillas de maíz de la ciudad de Veracruz. La incidencia de aflatoxinas y fumonisinas no varió dependiendo de la temporada sin embargo, la concentración de aflatoxinas sí, siendo mayor el contenido de aflatoxinas en temporada Octubre 2013.

El consumo de tortilla y el peso corporal de los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz fue descrito mediante PDF y análisis de covarianza, demostrando un mayor consumo en hombres y en personas de mayor peso.

Se evaluó la función de densidad de probabilidad de la ingesta diaria estimada de micotoxinas por consumo de tortilla de maíz, y se encontró que los consumidores de tortilla de la ciudad de Veracruz están en riesgo mayor al 5 % (30 - 60 %) por consumo de aflatoxinas en todas las temporadas, y menor al 5 % (0.01 - 1.1) para fumonisinas.

El tratamiento térmico y adición de Ca(OH)_2 tienen un efecto individual y sinérgico en la reducción del contenido de aflatoxinas en el grano de maíz durante la nixtamalización. La mayor reducción en el contenido de aflatoxinas se dio durante el lavado (< 70 %) debido al desprendimiento de pericarpio ocurrido en esta etapa del proceso.

Debido a la cantidad de carcinógenos encontrados en las tortillas de maíz, es recomendable vigilar la materia prima utilizada para la elaboración de tortillas y el proceso de nixtamalización en las tortillerías en la ciudad de Veracruz, recomendando el no agregar sólidos de nejayote en el producto terminado, ya que incrementaría el contenido de aflatoxinas. Es conveniente extender este estudio a diferentes ciudades, especialmente en las comunidades rurales, donde el consumo de tortilla por la población aumenta y existe un menor control sanitario en el proceso de nixtamalización.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Abramowitz, M. y Stegun, I. A. 1972 "Probability Functions." Ch. 26 in *Handbook of Mathematical Functions with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables, 9th printing*. New York: Dover, pp. 925-964,.
- Adamson AJ, Collerton J, Davies K, *et al.* 2009. Nutrition in advanced age: dietary assessment in the Newcastle 85+ study. *Eur J Clin Nutr.* 63 Suppl 1:S6–18.
- AMECH. 2015. Asociación Mexicana de Capital Humano. Estadística Laboral en México
- Aguilar, F., Hussain, S.P. y Cerutti P. 1993. Aflatoxin B1 induces the transversion of G→T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 90:8586–90.
- Anguiano-Rubalcaba, G.L., Verver, Y., Vargas, A. y Guzmán De Peña D. 2005. Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Publica de México.* 47:369–375.
- Ariño, A., Herrera, M., Estopañan, G., Rota, M.C., Carramiñana, J.J., Juan, T. y Herrera, A. 2009. Aflatoxins in bulk and pre-packed pistachios sold in Spain and effect of roasting. *Food Control.* 20:811–814.
- Asturias, M.A. 1975. Hombres de maíz. Editorial Universitaria Centroamericana, EDUCA, Guatemala.
- Bean, G.A y Echandi, R. 1989. Maize mycotoxins in Latin America. *Plant Disease.* 73:597–600.
- Biro G, Hulshof KFAM, Ovesen L, Amorim Cruz JA. 2002. Selection of methodology to assess food intake. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56(Suppl 2):S25-S32.
- Bittencourt, B.F., Oliveira, C.F., Dilkin, P. y Corrêa, B. 2005. Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in São Paulo, Brazil. *Food Control.* 16:117–120.
- Brera, C., Catano, C., De Santis, B., Debegnach, F., De Giacomo, M., Pannunzi, E. y Miraglia, M. 2006. Effect of industrial processing on the distribution of aflatoxins and zearalenone in Corn-Milling Fractions. *J Agric Food Chem.* 54:5014–5019.
- Bressani, R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Reviews International.* 6:225–264.
- Brown, R.L., Cleveland, T.E., Payne, G., Woloshuk, C., Campbell, K. and White, D. 1995. Determination of resistance to aflatoxin production in maize kernels and detection of fungal colonization using an *Aspergillus flavus* transformant expressing *Escherichia coli* b-glucuronidase. *Phytopathology*, 85, 983–989.
- Carrillo, L. 1991. 1. Mohos Y Micotoxinas. Ed. Universidad Nacional de la Salta. Argentina.
- Carvajal, M., Berumen, J., Guardado-Estrada, M. 2012. The presence of AFB1-FAPY adduct and human papilloma virus in cervical smears from cancer patients in Mexico. *Food Additives and Contaminants*, 29 (2): 258-268.
- Castella, G., Bragulat, M. R., y Cabañes, F. J. (1999). Surveillance of fumonisins in maize-based feeds and cereals from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4707–4710.
- Castillo-Ureta, P., Carvajal, M., Méndez, I., Meza, F. y Gálvez, A. 2011. Survey of aflatoxins in maize tortillas from Mexico City. *Food Additives & Contaminants: Part B.* 4:42–51.

Castillo, V.K.C., Ochoa, M.L., Figueroa, C.J.D., Delgado, L.E., Gallegos, I.J. y Morales, C.J. 2009. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 59:425–432.

CEDRSSA. 2014. Consumo, distribución y producción de alimentos: el caso del complejo maíz-tortilla. Centro de Estudios para el desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. Septiembre 2014.

CEFP. 2009. Centro de Estudios de las Finanzas Públicas.

Christensen, C. y Kaufmann, H. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Ed. Pax-Mex. 199p.

CIMMYT. 2010. Characterization of Maize Production. 978-607-8263-03-5.

Codex alimentarius 2003. Code of practice for the prevention and reduction of mycotoxin contamination in cereals, including annexes on ochratoxin a, zearalenone, fumonisins and tricothecenes cac/rcp 51-2003.

Coates RJ y Monteilh CP. 1997. Assessments of food-frequency questionnaires in minority populations. *Am J Clin Nutr*. Apr;65(4 Suppl):1108S-1115S.

Commission Regulation (EC) No 856/2005 of 6 June 2005 amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards Fusarium toxins, Official Journal of European Communities L 143, 3–8.

Commission Regulation. 2006. (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union.

CONEVAL. 2010. Consejo Nacional de Evaluación de la Política de desarrollo Social. Informe de evolución histórica de la situación nutricional de la población y los programas de alimentación, nutrición y abasto en México.

Coomes, T.J., Crowther, P.C., Fewell, A.J., y Francis, B.J., Experimental detoxification of groundnut meals containing aflatoxin. *Nature* 209:406–407 (1966).

Cotty P.J. y Jaime-García R. 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology* 119:107-115.

CRMYT. 2013. Consejo Regulatorio del Maíz y la Tortilla. Informes 2013.

De la Campa, R., Miller, D.J. y Hendricks, K. 2004. Fumonisin in Tortillas Produced in Small-Scale Facilities and Effect of Traditional Masa Production Methods on This Mycotoxin. *J. Agric. Food Chem*. 2004, 52, 4432–4437.

De Loera, J., Petrović, S., Stasi, D. 2016 Random sampling in computational algebra: Helly numbers and violator spaces, *Journal of Symbolic Computation*, 77, 1-15, ISSN 0747-7171,

Dolezal, A.L., Obrian, G.R., Nielsen, D.M., Woloshuk, C.P., Boston, R.S. y Payne, G.A. 2013. Localization, morphology and transcriptional profile of *Aspergillus flavus* during seed colonization. *Molecular Plant Pathology*. 14:898–909.

Dombrink-Kurtzman, M. y Dvorak TJ. 1999. Fumonisin content in masa and tortillas from Mexico. *J Agric Chemistry*. 47:622–7.

Dombrink-Kurtzman, M. 2000. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *Journal of agricultural*: 48, 5781-5786

Dombrink-Kurtzman, M.A., Gomez-Flores, R. y Weber R.J. 2000. Activation of rat splenic macrophage and lymphocyte functions by fumonisin B-1. *Immunopharmacology*. 49:401–409.

- Doyle, M.P. y Marth, E.H. 1978. Aflatoxin is degraded at different temperatures and pH values by mycella of *Aspergillus parasiticus*. *Eur J of Applied Microbiol and Biotechnol.* 6:95–100.
- Duffy, S. y Schaffner, D.W. 2002. Monte Carlo simulation of the risk of contamination of apples with *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology.* 78:245–255.
- Elias-Orozco, R., Castellanos-Nava, A., Gaytán-Martínez, M., Figueroa-Cárdenas, J.D. y Loarca-Piña, G. 2002. Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Additives Contam* 19:878–885.
- Evans, M., Hastings, N. y Peacock, B. 2000. Probability Density Function and Probability Function. Statistical Distributions, 3rd ed. New York: Wiley, pp. 9-11.
- FAO. 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los Alimentos y en las Raciones en el año 2003- Estudio FAO: Alimentación y Nutrición No 81, Roma, Italia.
- FAO/OMS. 1997. Risk management and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Rome, Italy, 27-31 January 1997. FAO Food and Nutrition Paper No. 65.
- FAO/OMS. 1999. Caracterización de riesgo de peligros microbiológicos en los alimentos. Serie de evaluación de riesgos microbiológicos Report of FAO/WHO Consultation (Report No.WHO/FSF/FOS/99.5).
- FAO/OMS. 1999. *The application of risk communication to food standards and safety matters.* Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, 2-6 February 1998. FAO Food and Nutrition Paper No. 70.
- FAO/OMS. 2002. Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts. Informe de una Consulta mixta FAO/OMS, 18-22 de marzo de 2002.
- FAO/OMS, 2003. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. food and nutrition paper no. 81 Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- FAO/OMS. 2004. The application of risk analysis in food control – challenges and benefits. Documento preparado por Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) para la Conferencia Regional FAO/OMS sobre inocuidad de los alimentos para Asia y el Pacífico. Seremban (Malasia), 24-27 de mayo.
- FAO/OMS. 2005. Principios de aplicación práctica para el análisis de riesgos aplicables en el marco del Codex Alimentarius. En Comisión del Codex Alimentarius. Manual de Procedimiento. 15 edición. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, Roma. Págs. 110-117.
- FAO/OMS. 2006. Utilización de los resultados de la evaluación de riesgos microbiológicos para elaborar estrategias prácticas de gestión de riesgos: Parámetros para mejorar la inocuidad de los alimentos. Informe de una Reunión Mixta FAO/OMS de expertos en colaboración con el Ministerio Federal de Alimentación, Agricultura y Protección del Consumidor, de Alemania. Kiel (Alemania), 3-7 de abril de 2006.
- FAO/WHO. 2006. The Use of Microbiological Risk Assessment Outputs to develop Practical Risk management Strategies: Metrics to improve food safety. Report of a Joint FAO/WHO Meeting in collaboration with the German Federal Ministry of Food.
- FAOSTAT. 2016, FAO database. Septiembre 2016.
- Fandohan, P., Hell, K. Marasas, W. y Wingfield M.J. 2003. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. *Journal of Biotechnology.* 2:570–579.
- Farnochi, M.C., Torres, A.M., Magan, N. y Chulze, S.N. 2005. Effect of antioxidants and competing mycoflora on *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* populations and fumonisin production on maize grain. *Journal of Stored Products Research.* 41:211–219.

- Fernández-Muñoz, J.L., Rojas-Molina, I., González-Dávalos, M.L., Leal, M., Valtierra, M.E., San Martín-Martínez, E. y Rodríguez, M.E. 2004. Study of Calcium Ion Diffusion in Components of Maize Kernels during Traditional Nixtamalization Process. *Cereal Chemistry*. 81:65–69.
- García, M., Blanco, J.L. y Suarez, G. 1994. Aflatoxins B₁ and G₁ solubility in standard solutions and stability during cold storage. *Mycotoxin Res.* 10.
- García, S. y Heredia, N. 2006. Mycotoxins in Mexico: Epidemiology, management, and control strategies. *Mycopathologia*. 162:255–264.
- Gimeno, A. y Martins, M. 2003. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. *Talleres gráficos del SRL*, Buenos Aires.
- Gutiérrez-Cortez, E., Rojas-Molina, I., Rojas, A. Arjona, J.L., Cornejo-Villegas, M.A., Zepeda-Benítez, Y., Velázquez-Hernández, R., Ibarra-Alvarado, C. y Rodríguez-García M.E. 2010. Microstructural changes in the maize kernel pericarp during cooking stage in nixtamalization process. *Journal of Cereal Sc.* 51:81–88.
- Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Pons-Hernandez, J.L., Guzman, H., Aguas-Angel, B., Arenas, J., Fernández, P., Palacios-Fonseca, A., Herrera, G. y Rodríguez, M.E. 2007. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized Quality Protein Maize as a function of cooking temperature. *Cereal Chem.* 84:186–194.
- Guzmán-De Peña D. 1989. Las aflatoxinas en maíz: un reto a los mexicanos. 1989. En: Memorias de la IV Mesa Redonda Latinoamericana sobre prevención de pérdidas postcosecha de granos; Montecillos, Texcoco, México : FAO / ANDSA , BORUCONSA / CONASUPO, 281-288.
- Hierro, J.M.H., Garcia-Villanova, R.J., Torrero, P.R. y Fonseca, I.M.T. 2008. Aflatoxins and ochratoxin a in red paprika for retail sale in Spain: Occurrence and evaluation of a simultaneous analytical method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:751–756.
- Hoornstra, E., y Notermans, S. 2001. Quantitative microbiological risk assessment. *Int J Food Microbiol.* 2001 May 21;66(1-2):21-9.
- Hoseynil, M.S. 1992. Risk Assessment for Aflatoxin: 111. Modeling the Relative Risk of Hepatocellular Carcinoma. *Risk Analysis*. 12:1.
- Hwang, J.H. y Lee, K.G. 2006. Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chem.* 98:71–75.
- IARC.1993. International Agency for Research on Cancer. 1993. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic amines and mycotoxins. IARC monographs on evaluation of carcinogenic risk to humans (Vol. 56). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- IARC. 2002. International Agency for Research on Cancer. 2002. Summaries & Evaluations No. 82. Lyon: IARC: fumonisin B₁ p.301.
- ICMSF. 1996. Toxigenic fungi: Aspergillus. In: RobertsTA, Baird-ParkerAC, TompkinRB, editors. *Microorganisms in foods 5: microbiological specifications of food pathogens. International Commission on Microbiological Specifications for Foods*. London , UK : Blackie Academic and Professional. An Imprint of Chapman & Hall. p 347–81.
- INEGI-ENIGH. 2006. Instituto Nacional de Estadística y Geografía-Encuesta nacional de ingresos y gastos de hogares.
- <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/Proyectos/Encuestas/Hogares/regulares/Enigh/Enigh2006/default.aspx>.

INEGI-ENIGH. 2012. Instituto Nacional de Estadística y Geografía-Encuesta nacional de ingresos y gastos de hogares.

<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/hogares/regulares/enigh/enigh2012/ncv/default.aspx>.

INEGI. 2016. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer.

http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/cancer2016_0.pdf

JECFA. 1999. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Forty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No 884. WHO, Geneva, Switzerland. <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_884.pdf> (accessed June, 2013).

JECFA. 2001. Joint Expert Committee of Food Additives. In Ochratoxin A, in "Safety evaluations of specific mycotoxins". Prepared by the fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 6e15 February, Geneva.

Keller, N.P., Butchko, R., Sarr, B. y Phillips, T.D. (1994) A visual pattern of mycotoxin production in maize kernels by *Aspergillus* spp. *Phytopathology*, 84,483–488.

Keller, K., Rodríguez, López, S., Carmenate, Moreno, M.M., Acevedo-Cantero, P. 2014. Associations between food consumption habits with meal intake behaviour in Spanish adults. *Appetite* [Internet]. 83:63-68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2014.08.012>

Key, T.J., Allen, N.E. y Spencer E.A. y Travis R.C. 2002. The effect of diet on risk of cancer. *Lancet*. 360:861–868.

Kroes R, Müller D, Lambe J, Löwik MRH, Van Klaveren J, Kleiner J, Massey R, Mayer S, Urieta I, Verger P, Visconti A. 2002. Assessment of intake from the diet. *Food and Chemical Toxicology*. 40:327-385.

Lammerding, A.M. y Fazil, A. 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*. 58:147–157.

Lucas, E. 2011. Aspectos generales de las micotoxinas. Evaluación según el codex alimentarius. Consultoría de la FAO.

Lillehoj, E., Kwolek, W., Peterson, R., Shotwell, O. y Hesseltine, C. 1976. Aflatoxin contamination, fluorescence, and insect damage in corn infected with *Aspergillus flavus* before harvest. *Cereal Chem*. 53, 505–512.

MacNeish, R. 1967. The prehistory of the Tehuacan Valley. D.Bryers ed Vol 1 University of Texas Press, Austin, Tx. USA.

Magan, N., Aldred, D. y Sanchis, V. 2004. The role of spoilage fungi in seed deterioration. *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications*: 311–323.

Marasas, W.F.O. 2001. Discovery and Occurrence of the Fumonisin: A Historical Perspective Events Leading to the Characterization of the Fumonisin in South Africa : Fumonisin : The First. *Environmental Health Perspectives*. 109:239–243.

Marín P., de Ory, A., Cruz, A., Magan, N. y González-Jaén, MT. 2013. Potential effects of environmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. *International journal of food microbiology*; 165:251–8.

Marín, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G. y Sanchis, V. 2012. Reduction of mycotoxins and toxigenic fungi in the mediterranean basin maize chain. *Phytopathologia Mediterranea*. 51:93–118.

- Marsh, S. y Payne, G. (1984) Preharvest infection of corn silks and kernels by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 74, 1284–1289.
- Martinez, R.R. 1979. Las aflatoxinas en Las tortillas. *Veterinaria Mexico* 10:37 - 44.
- Martínez-Flores, R. y García-Aguirre, G. 2003. Inspección de aflatoxinas en maíz cultivado, almacenado y transportado en el estado de Tamaulipas, México, en 1998. *Anales del Instituto de Biología, Serie Botánica* 74:313-321.
- Martins, F.A., Ferreira, F.M.D., Ferreira, F.D., Bando, É., Nerilo, S.B., Hirooka, E.Y. y Machinski, M. 2012. Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Parana, Brazil. *Food Control*. 26:614–618.
- Méndez-Albores, A., De Jesús-Flores, F., Castañeda-Roldan, E., Arámbula-Villa, G., Moreno-Martínez, E. 2004. The effect of toasting and boiling on the fate of B-aflatoxins during pinole preparation. *Journal of Food Engineering*. 65:585–589.
- Meredith, F.I., Torres, O.R., Saenz de Tejada, S., Riley, R.T. y Merrill, A.H.J. 1999. Fumonisin B1 and hydrolyzed fumonisin B1 (AP1) in tortillas and nixtamalized corn (*Zea mays* L.) from two different geographic locations in Guatemala. *Journal of food protection*. 62:1218–1222.
- Mira, J.J., Gómez, J., Aranaz, J., Pérez, E. 1997. Auditoría de historias clínicas: ¿Cuál es el tamaño adecuado de la muestra? *Todo Hospital*. 58-64.
- Mohamadi Sani, A. Gholampour Azizi, E. Ataye Salehi, E. y Rahimi, K. 2012. Reduction of aflatoxin in rice by different cooking methods. *Toxicology and industrial health*. 30:546–550.
- Mwalwayo, D.S. y Thole, B. 2016. Prevalence of aflatoxin and fumonisins (B1+B2) in maize consumed in rural Malawi. *Toxicology Reports*; 3:173–179.
- NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.
- NOM-188-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana. Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.
- Nuestro Agro, 1994. Como evitar la contaminación por hongos. Pág. 13-17. Disponible en: <http://www.nuestroagro.com.ar/nagro/revista/noticia.asp?id=622>.
- Ortega P.R. 2003. La diversidad del maíz en México. Pp:123-154. In : Esteva G y C Marielle (eds.). Sin Maíz no hay País. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas. México, D. F.
- Palencia, E., Torres, O., Hagler, W., Meredith, F.I., Williams, L.D. y Riley, R.T. 2003. Total fumonisins are reduced in tortillas using the traditional nixtamalization method of mayan communities. *Journal of Nutrition*. 133:3200–3203.
- PALISADE, 2016. Análisis de riesgo determinista – “El mejor de los casos, el peor de los casos y el resultado más probable”. Manual de software @risk.
- Payne, G., Hagler, W., Jr y Adkins, C. 1988. Aflatoxin accumulation in inoculated ears of field-grown maize. *Plant Dis*. 72, 422–424.
- Pérez-Flores, G.C., Moreno-Martínez, E., Méndez-Albores, A. 2011. Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *Journal of food science*. 76:T48-52.
- Picot, C., Carpentier, F.G., Parent-Massin, D., Roudot, A.C. 2010. Forts consommateurs de fruits de mer : cas particulier des pêcheurs à pied récréatifs dans le Finistère. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 45:195-204.
- Picot, C., Nguyen, T.A., Carpentier, F.G., Roudot, A.C., Parent-Massin, D. 2011. Relevant shellfish consumption data for dietary exposure assessment among high shellfish consumers, Western

Brittany, France. *International journal of environmental health research*. 21:86-105.

Pitt, J. I., y Hocking, A. D. 1996. Current knowledge of fungi and mycotoxins associated with food commodities in Southeast Asia. In E. Highley, & G. I. Johnson (Eds.), *Mycotoxin contamination in grains* (pp. 5e10). Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.

Pitt, J.I., Hocking, A.D., 2009. *Fungi and Food Spoilage*, 3rd edn. Springer, New York.

Plasencia, J. 2004. Aflatoxins in Maize: A Mexican Perspective. *Toxin Reviews*. 23:155–177.

Pouillot, R., Hoelzer, K., Chen, Y., Sherri, D. 2013. Estimating probability distributions of bacterial concentrations in food based on data generated using the most probable number (MPN) method for use in risk assessment. *Food Control*. (29) 350-357.

Pradeep, U.K., Geervani, P., Eggum, B.O. 1993. Common Indian spices: Nutrient composition, consumption and contribution to dietary value. *Plants Foods for Human Nutrition* 44: 137-148

Price, R.L., Jorgensen, K.V. 1985. Effects of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. *J Food Sci*. 50:347-349.

Reglamento (CE) no 1126/2007 de la Comisión, de 28 de septiembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de *Fusarium* en el maíz y los productos del maíz. DO L 225: 14-17.

Robledo, M., Marín, S. y Ramos, A. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev Iberoamericana de Micología* 18: 141-144.

Rodriguez-del-Bosque, L. 1996. Impact of Agronomic Factors on Aflatoxin Contamination in Preharvest Field Corn in Northeastern Mexico. *Plant Disease*. 80:988–993.

Rojas Liora, F. 1988. La cultura del maíz en Guatemala. Guatemala: Ministerio de Cultura y deportes.

Rooney, L.W. y Serna-Saldivar, S.O. 2016. Tortillas. *Reference Module in Food Science*. Elsevier; 319–325.

Rosiles-Martínez, R. 1979. Las aflatoxinas en las tortillas. *Veterinaria México* 10:37-44.

Ross, C. 2016. Sliding-scale environmental service payments and non-financial incentives: Results of a survey of landowner interest in Costa Rica. *Ecological Economics*. 130: 252-262.

Rustom, I.Y.S. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem*. 59:57–67.

Sandelowski, M. 2000. Focus on research methods combining qualitative and quantitative sampling , data collection , and analysis techniques in mixed-method studies. 246-255.

SCF. 1994. European Commission DG XXIV Unit B3. Thirty-fifth report. Opinion on aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1, and patulin. Expressed on 23 September 1994.

Schrieks, I.C., Stafleu, A., Griffioen-Roose, S., de Graaf, C., Witkamp, R.F., Boerrieger-Rijneveld, R., Hendriks, H.F.J. 2015. Moderate alcohol consumption stimulates food intake and food reward of savoury foods. *Appetite*. 89:77-83

Serna-Saldivar, S.O., Amaya-Guerra, C., Herrera-Macias, P., Melesio Cuellar J.L., Preciado Ortiz, R.E., Terron Ibarra, A.D. y Vazquez Carrillo, G. 2008. Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico. *Plant foods for human nutrition* (Dordrecht, Netherlands). 63:119–25.

SHCP. Secretaría de Hacienda y Crédito Público. 2014. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información.

Shephard, G.S., Burger, H.M., Gambacorta, L., Gong, Y.Y., Krska, R., Rheeder, J.P., Solfrizzo, M., Srey, C., Sulyok, M. y Visconti, A. 2013. Multiple mycotoxin exposure determined by urinary biomarkers in rural subsistence farmers in the former Transkei, South Africa. *Food and chemical toxicology . British Industrial Biological Research Association*. 62:217–25.

SE. 2012. Secretaría de Economía (México). Análisis del valor del maíz-tortilla situación actual y factores de competencia local [Analysis of the value of corn-tortillas situation the current and factors of local competition]. Dirección General de Industrias Básicas.

SIAP. 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Estadísticas de Producción para el Año Agrícola 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. www.siap.gob.mx/index (consulta, enero, 2014).

Smart, M.G., Wicklow, D.T. y Caldwell, R.W. 1990. Pathogenesis in *Aspergillus* Ear Rot of Maize - Light-Microscopy of Fungal Spread from Wounds. *Phytopathology*. 80:1287–1294.

SNIIM. 2015. Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados. Información Mensual de Precios Diarios de Tortilla en Tortillerías y Autoservicios de México.

Soriano del Castillo, J.M. y Burdaspal, P. 2007. Micotoxinas en Alimentos. Capítulo 8. Ed. Soriano del Castillo, J.M. Ed. Diaz de Santos, España 167-184.

Stockmann-Juvala, H. y Savolainen, K. 2008. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1. *Hum Exp Toxicol*. 27:799–809.

Sugita-Konishi, Y., Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, S., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, y S. Sugiyama K. 2010. Exposure to aflatoxins in Japan: risk assessment for aflatoxin B1. *Food Addit & Contam Part A*. 27:365–372.

Suitor CW, Yaktine A, Oria M. 2007. Nutritional Risk Assessment: Perspectives, Methods, and Data Challenges, Workshop Summary.

Thompson F.E. y Byers T. 1994. Dietary assessment resource manual. *J Nutr*. 124(11 Suppl): 2245S-2317S.

Tobergte DR, Curtis S. 2013. No Title No Title. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53:1689-1699.

Torres-Espinosa, E., Acuña-Askar, K., Naccha-Torres, L.R., Montoya-Olvera, R. y Castellon-Santa Anna, J.P. 1995. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. *Food Addit Contam*. 12:383–386.

Torres, P., Guzmán-Ortiz, M., Ramírez-Wong, B. 2001. Revising the role of pH and thermal treatments in aflatoxin content reduction during the tortilla and deep frying processes. *Journal of agricultural and food chemistry*. 49:2825-9.

Torres-Sánchez, L. y López-Carrillo, L. 2010. Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Publica de Mexico*. 52:461–467.

Trager, W. y Stoloff, S. 1967. Possible reactions for aflatoxin detoxification *J. Agric. Food Chem*. 15 (679)

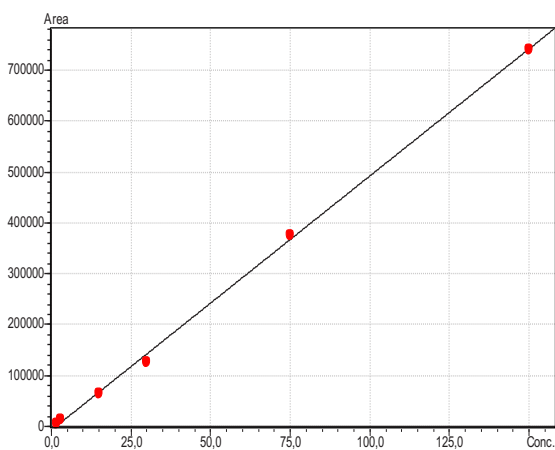
Trucksess, M. W. 2005. Natural toxins. In W. Horwitz, & G. W. Latimer, Jr. (Eds.), *Official methods of analysis of AOAC International* (pp. 1e85). Gaithersburg: AOAC International.

Vicente F, Saldaña-Ruiz S, Rabanal M, Rodríguez-Lagunas MJ, Pereira P, Pérez-Cano FJ, Castell M. 2016. A new Food Frequency Questionnaire to assess chocolate and cocoa consumption. *Nutrition*. 1-7.

- Waksberg, J. 1978. Sampling Methods for Random Digit Dialing. *Journal of the American Statistical Association*. 73:40-46.
- Whitaker, T.B. 2006. Sampling foods for mycotoxins. *Food additives and contaminants*. 23:50–61.
- Wilson, D.M. y Jay, E. 1975. Influence of modified atmosphere storage on aflatoxin production in high moisture corn. *Appl Microbiol*. 29:224–228.
- Windham, G. y Williams, W. (1998) *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin accumulation in resistant and susceptible maize hybrids. *Plant Dis*. 82, 281–284.
- Yogendrarajah, P., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Mavromichali, E., De Saeger, S., De Meulenaer, B. y Devlieghere, F. 2016. Mycotoxin production and predictive modelling kinetics on the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* isolates in whole black peppercorns (*Piper nigrum* L). *Int J Food Microbiology*. 228:44-57.
- Yanek, L.R., Moy, T.F., Raqueño, J.V., Becker, D.M. 2000. Comparison of the effectiveness of a telephone 24-hour dietary recall method vs an in-person method among urban African-American women. *J. Am. Diet Assoc*. 100(10):1172-7; quiz 1155-6.
- Yuef, H., Padrón, M., Delgado, S.H. y Genómica, C.D.B. 2013. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas The Genus *Aspergillus* and their Mycotoxins in Maize in Mexico: Problems and Perspectives. *Revista Mexicana De Fitopatología*. 31:126–146.
- Yun, Y.G., Torres-Sanchez, L., Lopez-Carrillo, L., Jian, H.P., Sutcliffe, A.E., White, K.L., Humpf, H.U., Turner, P.C. y Wild C.P. 2008. Association between tortilla consumption and human urinary fumonisin B1 levels in a Mexican population. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 17:688–694.
- Zhao, X., Schaffner, D.W. y Yue, T. 2013. Quantification of aflatoxin risk associated with Chinese spices: Point and probability risk assessments for aflatoxin B1. *Food Control*; 33:366–377.

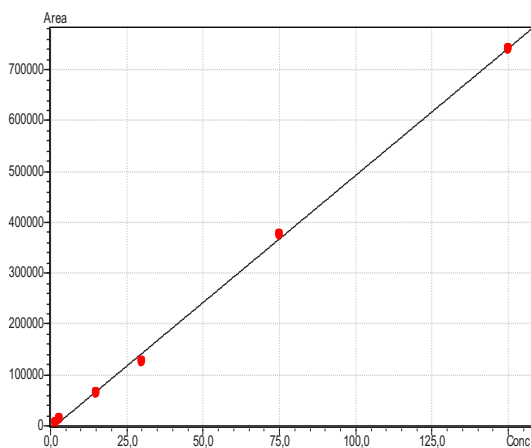
ANEXO B: CURVAS DE CALIBRACIÓN

Las curvas de calibración para fumonisinas B₁ y B₂ se presentan en la Figura B.1 y B.2, respectivamente.



$$\begin{aligned}y &= ax + b \\a &= 5503.80 \\b &= -18015.7 \\R^2 &= 0.9997527 \\R &= 0.9998764 \\RSS &= 1.390398e^9\end{aligned}$$

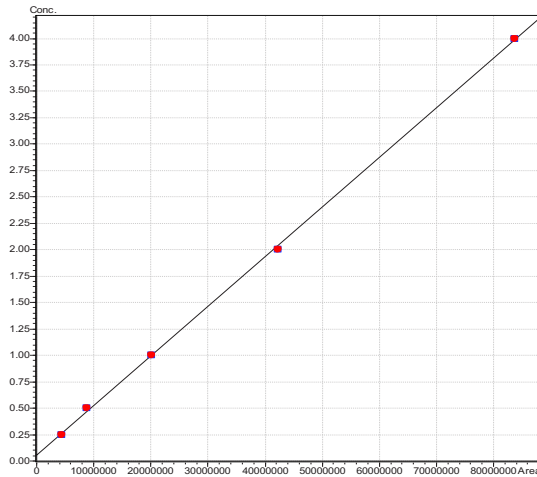
Figura B.1 Curva de calibración para fumonisina B₁



$$\begin{aligned}y &= ax + b \\a &= 49997.54 \\b &= -730152.7 \\R^2 &= 0.9990385 \\R &= 0.9995192 \\RSS &= 4.014710e^8\end{aligned}$$

Figura B.2 Curva de calibración para fumonisina B₂

Las curvas de calibración para Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ se presentan en la Figura B.3 y B.4, B.5 y B.6, respectivamente



$$y = ax + b$$

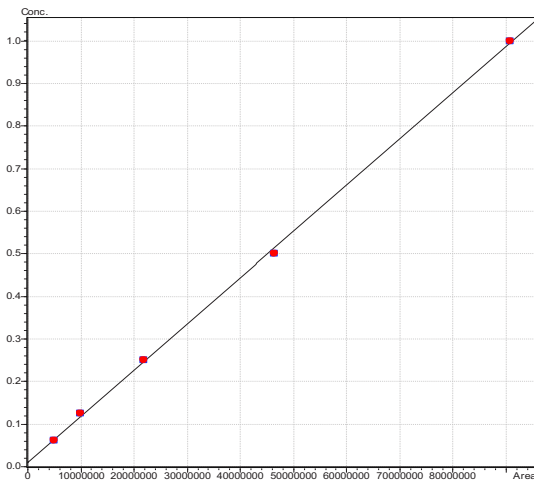
$$a = 1.598721e^{-8}$$

$$b = 4.069561e^{-2}$$

$$R^2 = 0.9993813$$

$$R = 0.9993813$$

Figura B.2 Curva de calibración para Aflatoxina B₁



$$y = ax + b$$

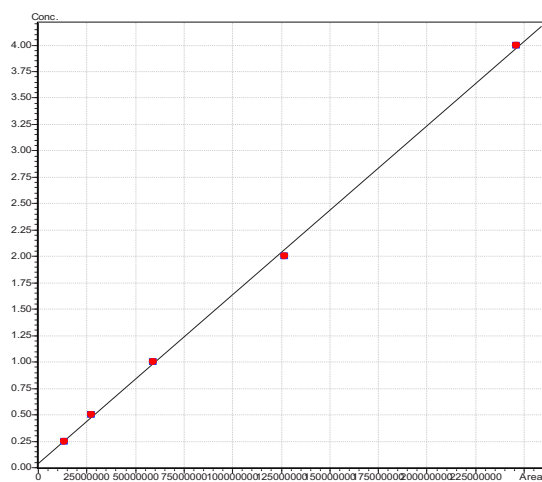
$$a = 1.08426e^{-8}$$

$$b = 1.062136e^{-2}$$

$$R^2 = 0.9995053$$

$$R = 0.9997526$$

Figura B.3 Curva de calibración para Aflatoxina B₂



$$y = ax + b$$

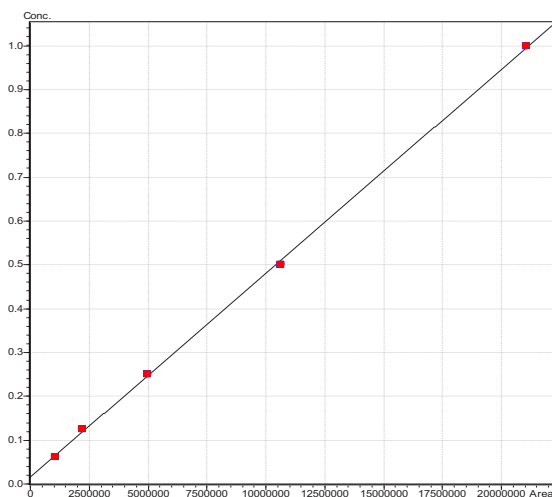
$$a = 4.692378e^{-8}$$

$$b = 5.649925e^{-2}$$

$$R^2 = 0.9996967$$

$$R = 0.9998483$$

Figura B.3 Curva de calibración para Aflatoxina G₁



$$y = ax + b$$

$$a = 4.653666e^{-8}$$

$$b = 1.534093e^{-2}$$

$$R^2 = 0.9996680$$

$$R = 0.9998340$$

Figura B.4 Curva de calibración para Aflatoxina G₂

Evaluation probabiliste du risque lié à l'exposition à des aflatoxines et des fumonisines dû à la consommation de tortillas de maïs à la ville de Veracruz

Résumé : Un des dangers chimiques les plus importants relevés par l'OMS concerne la contamination des céréales par les mycotoxines et notamment les aflatoxines et les fumonisines. La réglementation recommande des contaminations maximales d'aflatoxines dans les céréales inférieures à 20 mg/kg ; cependant on relève couramment des taux supérieurs à 200 mg/kg dans le maïs au Mexique. Bien qu'il ait été évalué que le processus de nixtamalisation détruit plus de 90 % des fumonisines et de 80 à 95 % des aflatoxines, le taux résiduel peut encore être élevé : certaines publications rapportent des concentrations jusqu'à 100 mg/kg dans les tortillas, ce qui représente un risque avéré vu la grande consommation de tortillas au Mexique (325g/j). Le JECFA (2001) a établi une dose maximale acceptable de 2µg/kg pc/j pour la fumonisine et recommande de réduire l'exposition aux aflatoxines au plus faible niveau possible en considérant que le seuil de 1 ng/kg pc/j ne devrait pas être atteint.

Au cours de cette thèse 3 enquêtes aléatoires et représentatives ont été menées dans 40 tortilleries de la ville de Veracruz. La consommation de maïs de la population a été évaluée à partir d'un questionnaire de consommation. L'analyse des mycotoxines a été réalisée par HPLC-FD par utilisation de colonnes à immunoaffinité selon la réglementation européenne (CIRAD-Montpellier). L'analyse des données obtenues a été effectuée selon une méthode probabiliste permettant de construire une fonction de distribution de probabilités à partir de la méthode de Monte Carlo (UBO). La représentativité de la population a été validée à partir d'évaluation de quotas de population après échantillonnage aléatoire initial. La contamination des tortillas a été mesurée à 0.54-1.96 mg/kg pour les aflatoxines et à 65-136 mg/kg pour les fumonisines. La consommation moyenne de tortillas a été mesurée à 148 g de maïs par jour. L'exposition de la population aux aflatoxines apparaît alors comprise entre 0,94 et 3,14 ng/kg pc/j et celle aux fumonisines entre 146 et 315 ng/kg pc/j. Les échantillons les plus contaminés proviennent des tortilleries réalisant elles-mêmes leur procédure de nixtamalisation. L'analyse des résultats montre que 60 % de la population de Veracruz serait à risque selon les préconisations du JECFA. L'exposition aux fumonisines atteint 5 % de la dose maximale acceptable, du fait d'une relativement faible contamination du maïs à cette mycotoxine. Les résultats montrent donc un risque sanitaire pour la population de la ville de Veracruz. Une extension de ce travail à la totalité de l'État de Veracruz, incluant la population rurale, devrait être menée du fait du risque probablement accru de cette dernière catégorie de population en lien avec sa plus forte consommation de maïs.

Mots clés : mycotoxine, probability density function, evaluation probabiliste du risque, exposition du risque alimentaire.

Probabilistic risk assessment for aflatoxins and fumonisins exposition through the consumption of maize tortillas in Veracruz City, Mexico

Abstract : One of the chemical hazards that WHO has reported more frequently is cereals contamination with mycotoxins, mainly aflatoxins and fumonisins. NOM-188-SSA1-2002 establishes that aflatoxin concentration in grain should not exceed 20 mg kg⁻¹ ; however, there are reported concentrations > 200 mg kg⁻¹ in maize. Although it has been documented that nixtamalization removes more than 90% of fumonisins and between 80 and 95% of aflatoxins, the residual amount could be important, finding reports concentrations higher than 100 mg kg⁻¹ of aflatoxin in tortilla, representing a risk due to the high consumption of tortillas in Mexico (325 g d⁻¹). The JECFA (2001) establishes a maximum intake of 2 mg kg⁻¹ pc d⁻¹ for fumonisin and aflatoxin recommends reducing "as low as reasonably achievable" levels. 3 random and representative sampling in Veracruz city, each in 40 tortilleries, were made. Corn intake and weight of the population were estimated using a consumption questionnaire. Mycotoxins analysis were performed by HPLC-FD using immunoaffinity columns according to European standard UNE-EN ISO 14123 : 2008 for aflatoxins and UNE-EN 13585 : 2002 for fumonisin in the CIRAD (Montpellier, France). Statistical analysis were performed under a probabilistic approach in collaboration with the University of Bretagne Occidentale (Brest, France), building probability density function (PDF) and using the Monte Carlo method. PDF parameters of the weight of the population was 74.15kg for men (which coincides with reported by CANAIVE) and 65.83kg for women ; the pollution aflatoxin tortilla was 0.54 – 1.96mg kg⁻¹ and fumonisin from 65.46 – 136.00mg kg⁻¹ ; the tortilla consumption was 148.3g of corn per person per day ; the daily intake of aflatoxins was 0.94 – 3.14ng kg⁻¹ bw d⁻¹ and fumonisin of 146.24 – 314.99ng kg⁻¹ bw d⁻¹. Samples with higher aflatoxin contamination came from tortilleries that make the nixtamalization in situ. In assessing exposure it was found that up to 60% of the population could be consuming more than the recommended by JECFA (2001) for aflatoxin dose (1ng kg⁻¹ bw d⁻¹). Exposure to fumonisins intake was < 5% due to low contamination by these mycotoxins. The results suggest that the population of the city of Veracruz could be in food risk by eating contaminated corn tortillas AFT. It is advisable to extend this study in rural communities, where risk factors could increase.

Keywords : mycotoxin, fonction de densité de probabilité,, probabilistic risk assessment, exposure of food risk.